Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität des Saarlandes
Direktor: Professor Dr. med. F. Doenecke

Beitrag zur Untersuchung von freien Phenolkörpern bei Kranken mit Leberkoma mittels der Dünnschichtchromatographie.

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

UDO STUMPF

Dekan: Professor Dr. med. H. Witter
Referent: Professor Dr. med. D. Müting

1969

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität des Saarlandes
Direktor: Professor Dr. med. F. Doenecke

Beitrag zur Untersuchung von freien Phenolkörpern bei Kranken mit Leberkoma mittels der Dünnschichtchromatographie.

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von
UDO STUMPF

Dekan: Professor Dr. med. H. Witter
Referent: Professor Dr. med. D. Müting

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 4. Juli 1969 abgelegt.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	3
B. BIOCHEMIE DER PHENOLE	7
Phenole als Metaboliten der aromatischen Aminosäuren im menschlichen Organismus	11
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	17
I. Material	17
II. Methoden	17
a. Verfahren zur Extraktion und Anreicherung von Phenolsäuren aus dem Urin	18
Einfache Phenole	2o
b. Farbentwicklung der Phenole mit 3 verschiedenen Phenolreagentien	22
c. Verfahren zur dünnschichtchromatographischen Trennung von Phenolsäuren und einfachen Phenolen	25
1. Chromatographie der Phenolsäuren	25
2. Chromatographie der einfachen Phenole	33
III. Untersuchungen über die Phenolsäureausscheidung im Urin Gesunder und Leberkomakranker	36
Ergebnisse - Gesunde.	41
Ergebnisse - Kranker	44

Seite

Einfache Phenole 69

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE 73

Phenolsäuren im Urin Gesunder und Leberkomakranker 73

Phenol und p-Kresol 78

E. ZUSAMMENFASSUNG 8o

F. LITERATURVERZEICHNIS 82

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Von vielen Autoren wird heute die Meinung vertreten, daß das klinische Bild des Coma hepaticum durch hirntoxisch wirkende Substanzen ausgelöst wird. Unter diesen Substanzen scheinen Abbauprodukte im Eiweißstoffwechsel eine entscheidende Rolle zu spielen. Dafür spricht, daß durch eine proteinreiche Ernährung bei Kranken mit einer fortgeschrittenen Lebererkrankung comatöse Zustände hervorgerufen werden können. Anfangs wurde der Ammoniak als die hirntoxische Substanz angesehen. Es zeigte sich allerdings sehr häufig, daß keinesfalls regelmäßig eine Beziehung zwischen der Höhe des arteriellen Blutammoniakgehaltes und dem Schweregrad der neurologischen und psychischen Erscheinungen nachzuweisen war. (SHERLOCK, MARTINI, MÜTING). Andererseits ließ sich häufig durch den Einsatz NH_3-senkender Medikamente, wie Asparaginsäure, Arginin, Glutaminsäure, Ornithin, Äpfelsäure oder die extrakorporale Hämodialyse der Blutammoniakspiegel nahezu vollkommen normalisieren, ohne daß der klinische Verlauf günstig beeinflußt wurde (SHERLOCK, MÜTING).

Es erscheint daher fraglich, ob der Ammoniak als alleinige Ursache für die Ausbildung des Coma hepaticum verantwort-

lich gemacht werden kann.

Aufbauend auf ältere Arbeiten von BECHER, LITZNER und DOENECKE hat MÜTING Untersuchungen über die Abbauprodukte der aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan, der Phenole und Indole durchgeführt. Von beiden Aminosäuren ist bekannt, daß sie im Lebercoma oft bis auf das Zehnfache der Norm im Serum erhöht sind (MÜTING, GEROK), da die Leber die Fähigkeit, autoregulativ den Aminosäurespiegel im Serum für die einzelnen Aminosäuren einzustellen, entsprechend der Schädigung verloren hat (GEROK).

Der Gehalt des Serums an freien Phenolen war bei Kranken im Leberzerfallskoma meist stark erhöht und bei Kranken im Leberausfallskoma mäßig bis stark, parallel dazu war meistens auch die Höhe der Phenolausscheidung im Urin erhöht. MÜTING erzielte diese Ergebnisse mit Hilfe einer Gruppenreaktion. Hierbei wurde im Anschluß an die Enteiweissung des Serums und Ätherextraktion die Farbreaktion mit dem Diazo-Reagens diazotiertes p-Nitroanilin durchgeführt. Alle colorimetrischen Nachweismethoden der Phenolkörper sind mehr oder weniger unspezifisch. Ihre Ergebnisse werden in unterschiedlichem Ausmaß von anderen im Substrat befindlichen Stoffen beeinflußt, bei den Diazotierungsmethoden unter anderen vom Tyrosin, Aceton, Arginin, Histidin

und Tryptophan (DEICHMANN u. Mitarbeiter, GOMORI). Außerdem erlauben sie keine Aussage über eventuell aufgetretene qualitative oder quantitative Veränderungen der einzelnen phenolischen Substanzen. Derartige Veränderungen lassen sich verhältnismäßig einfach durch chromatographische Verfahren erzielen.

1956 entwickelte ARMSTRONG und Mitarbeiter ein Verfahren zur Trennung von Phenolsäuren aus dem Urin mit Hilfe der Papierchromatographie. Es gelang ihnen, im Urin Gesunder 23 wohl definierte Substanzen mit Phenolcharakter zu identifizieren.

HARTMANN und RUGE übernahmen in ihrer Arbeit über das Phenolsäuremuster bei Leberkrankheiten dieses Verfahren. Sie berichteten über charakteristische Unterschiede des Phenolsäuremusters im Urin bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis, einer Cirrhose, einem portocavalen Shunt wie auch bei Patienten im Praecoma hepaticum. Im Praecoma war die Ausscheidung der p-Hydroxy-phenylmilchsäure regelmäßig erhöht, während die Konzentration der p-Hydroxyphenylessigsäure, der o-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure, der Vanillinsäure, der m- und p-Cumarsäure, der m-Hydroxyphenyl-β-Hydroxypropionsäure, der Xanthurensäure, des Tyrosins und der Isoferulasäure häufig vermehrt schien.

Eine verminderte Ausscheidung wurde bei der m-Hydroxyphenylessigsäure, der 1-Resorcylsäure und der Ferulasäure beobachtet.

Die papierchromatographischen Trennverfahren sind sehr zeitraubend. Die Dünnschichtchromatographie bietet gegenüber der Papierchromatographie den Vorteil einer schärferen Trennung der Substanzen bei kürzeren Laufzeiten. In der vorliegenden Arbeit sollen deshalb dünnschichtchromatographische Verfahren zur Trennung der Phenolsäuren im Urin und zur Trennung der einfachen Phenole wie Phenol und die Isomeren des Kresols getestet werden. Außerdem soll eine Methode zur quantitativen Bestimmung mittels der Dünnschichtchromatographie für die Substanzen p-Hydroxyphenylmilchsäure und der p-Hydroxyphenylessigsäure erarbeitet werden. Mit Hilfe dieser Verfahren soll die Phenolausscheidung bei Patienten im Leberkoma verschiedener Ätiologie und verschiedenen Schweregrades verglichen werden.

Das Leberkoma wird nach seiner Pathogenese in drei Gruppen unterteilt: das Leberzerfallskoma, das Leberausfallskoma und die Mischform aus Leberzerfalls- und Leberausfallskoma. Zusätzlich werden die einzelnen Comata entsprechend dem Schweregrad in die in Deutschland gebräuchlichen

Stadien 0 - III unterteilt.

Bevor auf die einzelnen Untersuchungen eingegangen wird, soll im folgenden Kapitel die Biochemie der Phenole erörtert werden.

B. BIOCHEMIE DER PHENOLE

Die große Gruppe der Phenole umfaßt alle jene Verbindungen, die eine Hydroxylgruppe am aromatischen Kern besitzt. Sie werden nach ihrem einfachsten Vertreter dem Phenol benannt.

Konstitutionsformel des Phenols.

Vom Organismus werden sie teils durch die Nahrung aufgenommen, teils werden sie im Gastrointestinaltrakt durch den Stoffwechsel der Bakterien gebildet, teilweise fallen

sie als Metaboliten des endogenen Tyrosinstoffwechsels an.

Unter den natürlich vorkommenden Substanzen in den Nahrungsmitteln sind einige Hundert bekannt, darunter kompliziert aufgebaute Ringsysteme wie die Farbstoffe der Blüten und Früchte, die Flavone und Anthozyane, wie auch einfach strukturierte monocyclische Substanzen wie die Phenolsäuren. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß die einzelnen Nahrungs- und Genußmittel wie auch phenolhaltige Medikamente die Phenolausscheidung des Menschen jeweils typisch beeinflussen. Die Beeinflußbarkeit durch Obst, Kaffee, Gerbstoffe und Medikamente sowie durch Reinsubstanzen konnte in zahlreichen Arbeiten nachgewiesen werden (TAUTZ, SHAW, HARTMANN, BOOTH, KATSCH). Die Phenole können dabei einerseits im Urin in unveränderter Weise ausgeschieden werden, andererseits aber auch im Organismus typische Umwandlungen erfahren. Sie bestehen in einer Konjugierung, Oxydation und Reduktion, Hydroxylierung und Dehydroxylierung, Methylierung und Demethylierung. Die Konjugation erfolgt vorwiegend mit Schwefelsäure, Glukuronsäure und Glycin. Sie findet zum größten Teil in der Leber statt, aber auch in der Darmschleimhaut und in der Niere (WILLIAMS).

Die Darmbakterien sind sowohl in der Lage aus einfachen Kohlenwasserstoffen aromatische Verbindungen, wie zum Beispiel die aromatischen Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan herzustellen als auch die aromatischen Verbindungen in typischer Weise abzubauen (DALGLIESH).

Insgesamt stellen die aromatischen Verbindungen, die durch die Syntheseleistung der Darmbakterien entstehen, nur einen kleinen Teil der vom Menschen aufgenommenen aromatischen Verbindungen dar. Der Hauptanteil wird ihm mit der Nahrung zugeführt. (DALGLIESH). Diese Verbindungen können ihrerseits durch den Metabolismus der Bakterien typische Umwandlungen erfahren. Sie können dekarboxyliert werden zu den entsprechenden Aminen, die ihrerseits oxydativ desaminiert werden können zu den entsprechenden Aldehyden oder häufiger weiter zu den entsprechenden Säuren. Der zweite sehr häufig beschrittene Weg besteht in einer oxydativen Desaminierung oder Transaminierung. Die Ketosäuren können weiter zu Essigsäurederivaten umgeformt werden. Eine Reduktion der Brenztraubensäurederivate führt zu Milchsäurederivaten. Eine Dehydration der Milchsäurederivate ergibt die Cumarsäuren (Acrylsäuren), die durch Reduktion in die Propionsäurederivate umgewandelt werden können.

Durch das Ferment ß-Tyrosinase kann aus Tyrosin direkt Phenol gebildet werden.

HARTMANN fand mit Hilfe der Papierchromatographie als Stoffwechselprodukte der aromatischen Aminosäuren durch die Darmbakterien im Stuhl m-Hydroxyphenylpropionsäure, m- und p-Hydroxyphenylessigsäure, p-Hydroxyphenylmilchsäure, Ferulasäure, Vanillin, Homovanillin, 1-Resorcylsäure, 5-Hydroxyindolessigsäure und wahrscheinlich auch Xanthurensäure. Wir konnten auf Grund eigener dünnschichtchromatographischer Untersuchungen des Stuhls gesunder Erwachsener die Ergebnisse von HARTMANN im wesentlichen bestätigen, zusätzlich fanden wir die p-Cumarsäure. Bei Untersuchungen der eiweißhaltigen Nährlösungen nach Bebrütung mit B.Proteus vulg. fanden wir von den Phenolsäuren besonders die p-Hydroxyphenylpropionsäure und die p-Hydroxyphenylessigsäure, nach Bebrütung mit E. coli die p-Hydroxyphenylessigsäure und die p-Hydroxyphenylmilchsäure.

Bei Patienten, die mit Chloramphenicol per os behandelt wurden, ließen sich keine Phenolsäuren im Stuhl (o,5 - 1 g) nachweisen (MÜTING, BARTH, STUMPF, ARFEEN).
HARTMANN und LENZ unterdrückten mit Neomycin und Chloramphenicol die Darmflora von Ratten und bemerkten daraufhin, daß die 1-Resorcylsäure sowie eine unbekannte Phenolsäure, die im Urin unbehandelter Tiere regelmäßig gefunden wurde, fehlte.

RUGE fand bei seinen Untersuchungen über die Phenolsäureausscheidung beim Menschen, die mit oralen Antibiotika behandelt wurden, eine Verminderung der m-Hydroxyphenylderivate, wie der m-Hydroxyphenylessigsäure, der m-Hydroxyphenyl-ß-Hydroxypropionsäure sowie der 3-Methoxy-4-Hydroxyphenyl-ß-Hydroxypropionsäure.

Die wasserdampfflüchtigen Phenole, wie Phenol und p-Kresol, die nahezu ausschließlich an Schwefelsäure und Glukuronsäure gekoppelt sind, lassen sich bei medikamentöser Unterdrückung der Darmflora nicht mehr nachweisen (ROGERS).

Der normale Abbauweg der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin verläuft über die p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure und Homogentisinsäure zu Fumarsäure und Acetessigsäure (Abb. 2), die ihrerseits im Zitronensäurecyclus weiter abgebaut werden. Dieser Abbauweg scheint leberspezifisch zu sein. Zusätzlich zu diesem Hauptabbauweg kommen Nebenabbauwege in Frage, wie sie in Abb. 1 dargestellt sind.

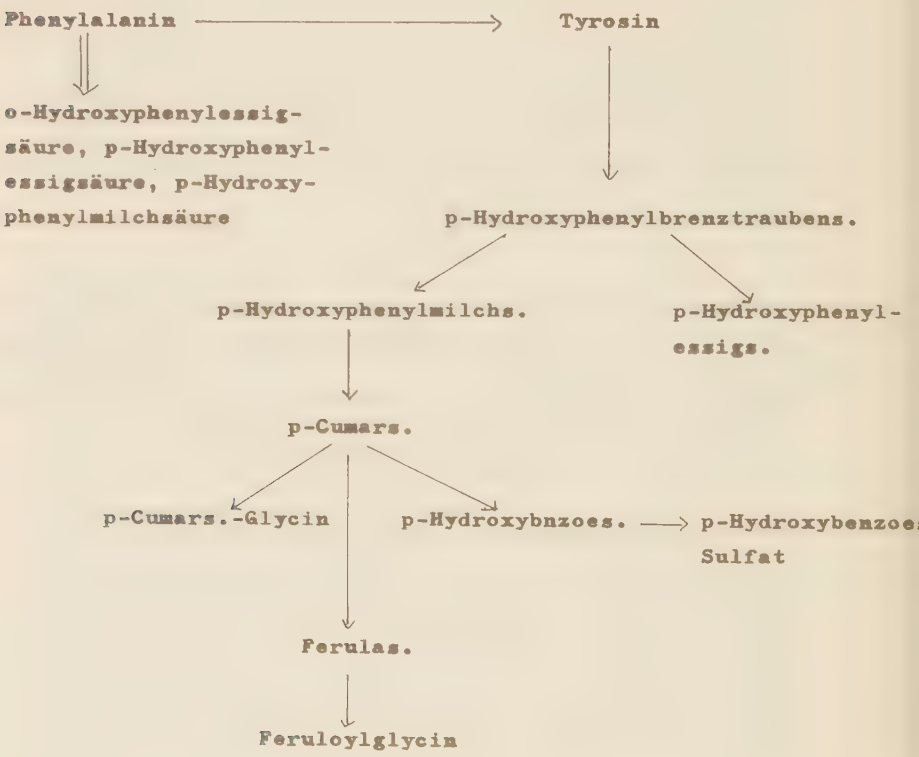


Abb. 1: Seitenabbauwege aromatischer Aminosäuren
(in Anlehnung an HARTMANN und RUGE, DALGLIESH, BOOTH und Mitarbeiter).

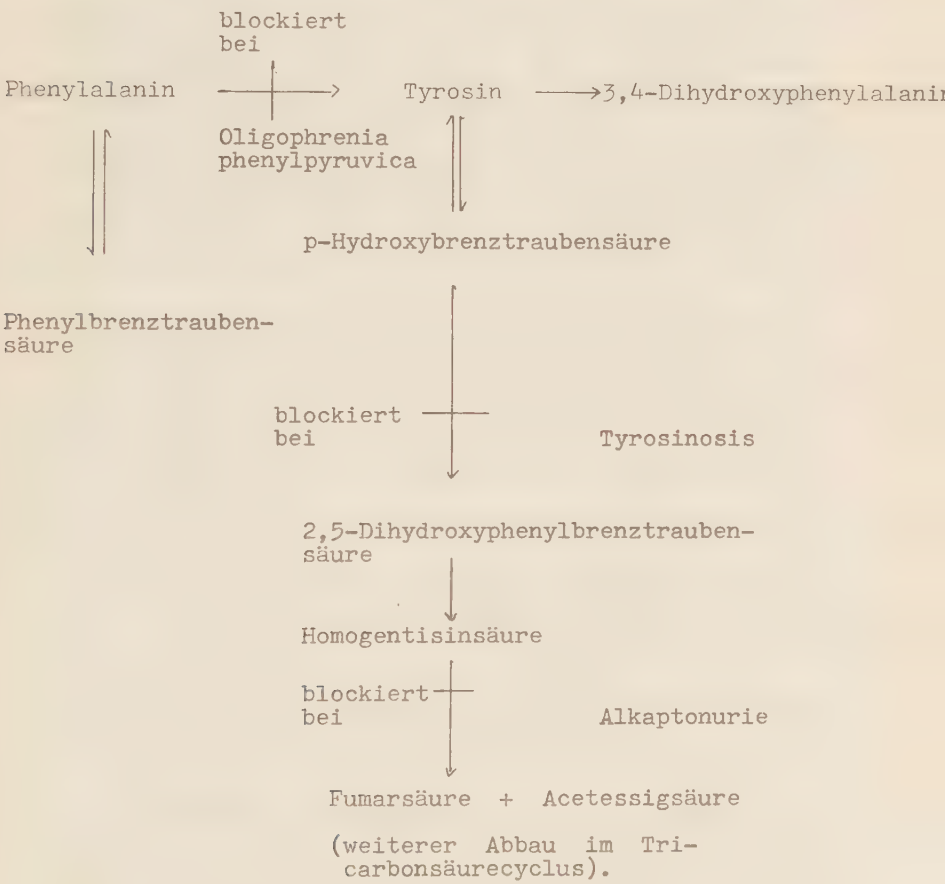


Abb. 2: Beziehungen der angeborenen Enzymdefekte zum Tyrosinstoffwechsel (nach DALGLIESH).

BOOTH und BICKEL konnten im Urin von Kindern mit einer Oligophrenia phenylpyruvica (Abb. 2) o- und p-Hydroxyphenylessigsäure und p-Hydroxyphenylmilchsäure nachweisen. Diese Befunde legen die Vermutung nahe, daß im menschlichen Organismus die Bildung von o- und p-Hydroxyphenylsäuren auch ohne die Zwischensubstanz Tyrosin direkt aus dem Phenylalanin möglich ist.

Ein weiterer Nebenabbauweg der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin verläuft über die Bildung von p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure, p-Hydroxyphenylessigsäure und p-Hydroxyphenylmilchsäure.
Eine vermehrte Ausscheidung dieser Substanz im Urin bezeichnet man als Oxyphenylurie (AMMON und HENNING) oder Tyrosylurie (ZANNONI und Mitarbeiter).

1932 berichtete MEDES über einen Patienten, der spontan und nach Belastung mit Tyrosin und Phenylalanin große Mengen an p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure, p-Hydroxyphenylmilchsäure, Tyrosin und 3,4-Dihydroxyphenylalanin ausschied. Dieses Krankheitsbild nannte sie Tyrosinosis. Sie schloß aus den Ergebnissen ihrer Untersuchung, daß bei diesem Patienten die Bildung von 2,5-Dihydroxyphenylverbindungen nicht durchgeführt wurde, und daß somit ein enzymatischer Block auf einer frühen Stufe des normalen Tyrosinabbaues vorliege (Abb. 2).

Eine Oxyphenylurie oder Tyrosylurie kann bei einer Reihe von Erkrankungen beobachtet werden: teilweise bei reifen Neugeborenen (BLOXAM und Mitarbeiter), bei Frühgeborenen (LEVINE und Mitarbeiter), bei Diabetikern (KATSCH und CRAWACK), bei Lebererkrankungen (HARTMANN und RUGE), in Stress-Zuständen (ROBINSON), außerdem findet man eine erhöhte Ausscheidung an p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure bei verschiedenen Muskelerkrankungen, bei Infekten, malignen Tumoren, hochgradiger Arteriosklerose, multipler Sklerose (GROS und KIRNBERGER) und bei Vitaminmangelzuständen (SEALOCK und SILBERSTEIN).

Nach der Definition von MEDES gehören diese Fälle nicht zu der von ihr beschriebenen Tyrosinosis. Man muß derartige Stoffwechselstörungen zu den sekundären, exogenen Enzymopathien rechnen (AMMON und HENNING).

BOOTH und Mitarbeiter folgerten aus ihren Versuchen mit Ratten, daß der Abbau über die p-Hydroxyphenylmilchsäure hinaus normalerweise zu p-Cumarsäure, p-Hydroxyphenylpropionsäure, p-Hydroxybrenztraubensäure sowie den Kopplungsprodukten p-Cumarsäureglycin und p-Hydroxybenzoesäuresulfat (Abb. 1) verlaufen kann.

HARTMANN und RUGE vermuten ähnliche Abbauschritte für den Menschen, zusätzlich glauben sie, daß der menschliche Organismus in der Lage ist, p-Cumarsäure in Ferulasäure umzuformen und sie entweder in freier Form oder gekoppelt an Glykokoll im Urin auszuscheiden (Abb. 1).

Tyrosin hat eine zentrale Bedeutung im Organismus des Menschen, es stellt die Ausgangssubstanz für die Schilddrüsenhormone, die Hormone des Nebennierenmarks, wie Adrenalin und Noradrenalin dar wie auch für den Hautfarbstoff Melanin. Außerdem ist es ein wesentlicher Bestandteil des Körperproteins. Einzelne Abbauprodukte dieser Substanzen werden im Urin als Phenolkörper ausgeschieden, sie stellen also indirekt Stoffwechselprodukte des Tyrosins dar. So werden die Catecholamine etwa zu Vanillinmandelsäure und Vanillinsäure abgebaut und vom DOPA kennt man die m-Hydroxyphenylessigsäure und die Homovanillinsäure als Abbauprodukt.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material:

Es wurde in der Regel der 24-Std.-Urin untersucht. Im Leberkoma war das Sammeln zeitweilig nicht durchzuführen. Hier wurden häufiger einzelne Urinproben untersucht. Urin, der nicht am gleichen Tag aufgearbeitet werden konnte, wurde in der Tiefkühltruhe tiefgefroren.

II. Methoden:

Es ist notwendig, die Phenole mit organischen Lösungsmitteln aus dem Urin zu extrahieren und anschließend durch Abdampfen des Lösungsmittels sie anzureichern. Die Chromatographie des Urins selbst bringt keine Ergebnisse, da die Phenole nur in geringen Mengen im Urin vorliegen, und der Urin andererseits eine Vielzahl von Stoffen enthält, die die Chromatographie stören. Es soll zunächst in diesem Teil der Arbeit auf die Extraktions- und Anreicherungsverfahren eingegangen werden, getrennt für die Phenolsäuren und die einfachen Phenole, wie Phenol und p-Kresol. Anschließend werden ihre Farbeigenschaften gegenüber den Diazo-Reagentien diazotierte Sulfanilsäure und diazotiertes p-Nitroanilin sowie dem 1-Nitroso-2-Naphthol-Reagens geprüft und Verfahren zur dünnschicht-

chromatographischen Trennung getestet.

a. Verfahren zur Extraktion und Anreicherung

Phenolsäuren.

Es werden 5 - 2o ml, in der Regel 5 ml, des 24-Std.-Urins mit Natriumchlorid bis zur Sättigung versetzt und mit 2 n Salzsäure bis zu einem pH zwischen 0 und 1 angesäuert (Prüfung durch Lackmus - Papier).
Die Extraktion erfolgt durch zweimaliges Ausschütteln mit dem dreifachen Volumen an Diäthyläther im Zentrifugenglas mit Schliffstopfen. Zur Trennung der beiden Phasen wird das Gemisch bei mittlerer Umdrehungszahl zentrifugiert. Um beim Öffnen der Gläser das Herausspritzen des Äthers zu vermeiden, werden die Gläser nach dem Zentrifugieren für ca. 5 Minuten im Eiswasser abgekühlt, erst dann werden die Glasstopfen entfernt. Die vereinigten Ätherextrakte werden im Wasserbad von 37°C zur Trockene eingedampft, und der Rückstand in 1 ml eisgekühltem Methanol aufgenommen. Die Reagenzgläser bleiben während der Zeit des Auftragens des Methanolextraktes auf die Dünnschicht im Eiswasser.

Wiederauffindungsversuche für die p-Hydroxyphenylessig-säure und die p-Hydroxyphenylmilchsäure.

Die Reinsubstanzen p-Hydroxyphenylessigsäure und p-Hydroxyphenylmilchsäure werden aus einer wässrigen Phase entsprechend der beschriebenen Methode mit Diäthyläther extrahiert, der Ätherextrakt zur Trockene eingedampft. Im Trockenrückstand werden beide Säuren quantitativ mit dem 1-Nitroso-2-Naphthol-Reagens nach den Angaben von TOMPSETT und OTTAWAY bestimmt.

Reagentien.

1) o,3 % 1-Nitroso-2-Naphthol in Aceton
2) 65 % Salpetersäure
3) Stabilisatorlösung
   Herstellung der Stabilisatorlösung: Zu 2ooo ml einer 6 % NaCl-Lösung werden 25o ml Aceton gegeben, und anschließend das gesamte Gemisch mit Wasser auf ein Liter aufgefüllt. Vor Gebrauch gibt man 1 ml 1 mol Eisen-III-Chlorid zu 1oo ml dieser Lösung.

Ausführung.

Der Trockenrückstand des Ätherextraktes wird in 2 ml Wasser aufgenommen. Hierzu gibt man o,5 ml des o,3 %

1 Nitroso-2-Naphthol-Reagens und erwärmt das Gemisch für 5 Minuten auf 65°C. Dann werden 4 Tropfen einer 65 %igen Salpetersäure hinzugegeben, und das Gemisch erneut für 1 Minute ins Wasserbad von 65°C gestellt. Nach Herausnahme aus dem Wasserbad wird mit 6 ml Stabilisatorlösung aufgefüllt. Das überschüssige 1-Nitroso-2-Naphthol-Reagens wird durch Ausschütteln mit 6 ml Äthylacetat aus der wässrigen Phase extrahiert und anschließend verworfen. Die Extinktion der wässrigen Phase wird im Eppendorf-Photometer bei der Wellenlänge von 492 nm in Küvetten mit der Schichtdicke von 1 cm gemessen. Sowohl die p-Hydroxyphenylessigsäure wie auch die p-Hydroxyphenylmilchsäure bilden mit dem Reagens eine rote Farbe, die für mindestens 1 Stunde konstant bleibt.

Die Wiederauffindung der Reinsubstanz p-Hydroxyphenylessigsäure bei einer Vierfachbestimmung im Trockenrückstand betrug im Mittel 97,5 % (95 - 1oo %); die p-Hydroxyphenylmilchsäure wurde im Mittel zu 8o % wiedergefunden.

Einfache Phenole.

Zur Extraktion werden 1o ml des nicht angesäuerten Urins zweimal mit 5 ml Diäthyläther ausgeschüttelt. Der Äther wird bis zu einer Menge von ca. o,1 ml abge-

dampft und sofort auf die vorbereitete Dünnschicht aufgetragen.

Wiederauffindungsversuche mit Phenol.

Um eine Vorstellung darüber zu erhalten, wieviel von einer in Wasser vorgegebenen Phenolmenge bei dieser Methode von dem sehr flüchtigen Phenol verloren geht, führten wir im Trockenrückstand des Ätherextraktes die quantitative Bestimmung mit dem Phenolreagens nach Folin-Ciocalteu (Merck) durch.

Reagentien: Folin-Ciocalteu-Phenolreagens (Merck)
10 % Na_2CO_3-Lösung

Durchführung:
Der Trockenrückstand wird sofort nach Abdampfen des Äthers in 3 ml Wasser aufgenommen. Zu dieser Lösung werden 1 ml verdünntes Phenolreagens (9 ml Wasser + 1 ml Phenolreagens) und 1 ml 1o % Na_2CO_3-Lösung gegeben. Das Gemisch wird im Wasserbad von 37°C für genau 3o Minuten erwärmt und anschließend die Extinktion der blauen Farbe im Eppendorf - Photometer bei der Wellenlänge von 572 nm in Küvetten mit der Schichtdicke von 1 cm abgelesen.

Im Trockenrückstand wurden im Mittel 57 % (55 - 62,5 %) der ursprünglichen Phenolmenge nachgewiesen. Wenn der Äther über 1 ml o,1 n NaOH-Lösung abgedampft wird, so beträgt die Wiederauffindung im Mittel 85 %, was auf eine Bindung des Phenols mit der Natronlauge zurückzuführen ist. Dieses Experiment zeigt, daß ein großer Teil des Phenols mit dem Äther flüchtig ist.

b. Farbentwicklung der Phenole mit 3 verschiedenen Phenolreagentien.

Von den in der Literatur angegebenen Sprühreagentien zum Nachweis von Phenol und seinen Derivaten haben wir die diazotierte Sulfanilsäure, das diazotierte p-Nitroanilin und das 1-Nitroso-2-Naphthol untersucht.

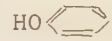
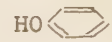
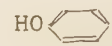
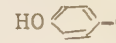
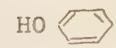
1) Diazotierte Sulfanilsäure - Reagens (Paulys Reagens):
   Die diazotierte Sulfanilsäure wurde entsprechend den Angaben von RANDERATH hergestellt. Eine Spatelspitze diazotierte Sulfanilsäure wird in 15 ml 2o % Na_2CO_3 gelöst. und sofort auf die Dünnschicht aufgesprüht.
2) p-Nitroanilin - Reagens.
   1,5 g p-Nitroanilin werden in 4o ml konzentr. Salzsäure gelöst und mit Wasser auf 5oo ml aufgefüllt. Vor Gebrauch werden 25 ml dieser Lösung mit 1,5 ml 5 % Natriumnitrit versetzt. Das Chromatogramm wird

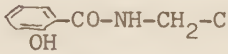
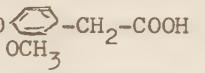
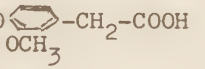
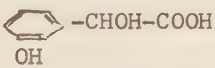
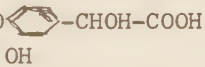
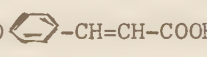
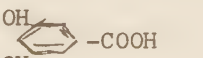
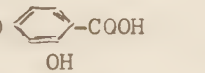
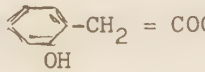
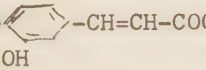
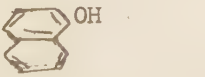
zunächst mit dem p-Nitroanilin - Reagens angesprüht und anschließend mit 2o % Na_2CO_3-Lösung.

3) 1 Nitroso-2-Naphthol-Reagens.
Dieses Reagens besteht aus Lösung I: o,3 % 1 Nitroso-2-Naphthol in Aceton und Lösung II: 65 % Salpetersäure. Es wird zunächst Lösung I und dann Lösung II auf die Platten gesprüht.

Die Farben der Phenole nach Behandlung mit den 3 Sprühreagentien auf Kieselgel G - Schichten zeigt die Tabelle 1.

Tabelle 1: Farbentwicklung von Phenolen mit den Sprühreagentien diaz. Sulfanilsäure, diaz. p-Nitroanilin und 1-Nitroso-2-Naphthol.

Nr.	Substanz	Formel	Sulf.	Nitroan.	1-N-2-N
1	p-Hydroxyphenyl-essigsäure		rot	violett	rot
2	m- "		gelb	rot	ø
3	o- "		gelb	rot	ø
4	p-Hydroxybenzoes.		gelb	rot	ø
5	m- "		gelb	rosa	ø
6	o- "		gelb	rosa	ø
7	p-Hydroxyphenyl-brenztraubensäure		orange	gelb	rot
8	p-Hydroxyphenyl-milchsäure		rot	violett	rot
9	p-Hydroxyphenyl-propions.		orange	violett	rot
1o	p-Cumarsäure		violett	blau-gr.	
11	m- "		orange	braun	
12	o- "		gelb	violett	
13	p-Kresol		rot		rot
14	m- "		orange		ø
15	o- "		orange		ø

Nr.	Substanz	Formel	Sulf.	Nitroan.	1-N-2-N
16	Phenol		gelb		ø
17	o-Hydroxy-hippurs.		gelb	rot	violett
18	Vanillins.		orange	violett	ø
19	Homovanillins.		violett	braun	ø
2o	Vanillinmandels.		orange	violett	
21	3,4-Dihydroxy-benzoes.		violett		braun
22	m-Hydroxy-mandels.		gelb	rot	violett
23	3,4-Dihydroxy-mandels.		violett		ø
24	Ferulas.		violett	grün-blau	ø
25	α-Resorcyls.		gelb	hell	violett
26	ß -Resorcyls.		braun	braun	ø
27	Homogentisins.		braun	braun	ø
28	Kaffees.		grau	braun	gelb
29	1-Naphthol		rot		ø

c. Verfahren zur dünnschichtchromatographischen Trennung von Phenolsäuren und einfachen Phenolen.

Für die dünnschichtchromatographische Trennung von Phenolen werden Kieselgel-, Cellulose- und Polyamidschichten empfohlen (STAHL, RANDERATH). Die Celluloseschichten bieten den Vorteil, daß die Fließmittelsysteme aus der Papierchromatographie auf die Dünnschichtchromatographie übertragen werden können.

Wir benutzten Celluloseschichten und Kieselgel-G-Schichten. Bei der Trennung auf Celluloseschichten übernahmen wir das für die Phenolsäuren angegebene Fließmittelsystem von ARMSTRONG, modifiziert nach HARTMANN, und für die einfachen Phenole das von MERCK*) angegebene Verfahren.

Zur Trennung von Phenolderivaten auf Kieselgel G-Schichten verwandten wir drei Fließmittel nach Angaben von SCHMID und ein Fließmittel in Anlehnung an RANDERATH.

1. Chromatographie der Phenolsäuren.

Celluloseschichten.

Die Absorptionsschichten wurden mit dem Cellulosepulver MN 300 HR (Machery u. Nagel) nach den Angaben

---

*) Firmenschrift der Firma MERCK AG., Darmstadt.

von STAHL und RANDERATH angefertigt. Die Schichtdicke betrug o,25 mm. Die Schichten wurden an der Luft getrocknet und bis zur Benutzung im Exsiccator aufbewahrt.

Die Trennung des Phenolgemisches, das punktförmig 1,5 cm vom unteren und linken Rand aufgetragen wurde, erfolgte aufsteigend zweidimensional, in der 1. Richtung mit dem Fließmittel Isopropylalkohol, Ammoniak, Wasser (8:1:1) und in der 2. Richtung mit dem Fließmittel Benzol, Eisessig, Wasser (125:72:3). Die Steighöhe des Fließmittels betrug in beiden Richtungen 15 cm. Nach der Chromatographie mit dem Fließmittel 1 wird das Chromatogramm im Trockenschrank bei einer Temperatur von 50°C für 3o Minuten getrocknet.

Die Abbildung 3 zeigt das Ergebnis einer Trennung eines Phenolgemisches bestehend aus 19 Phenolen. Die Trennung in die einzelnen Komponenten ist sehr gut, mit Ausnahme der Isomeren des Kresols, des Phenols und des 1-Naphthols, die sich nicht voneinander trennen lassen und in beiden Fließmitteln an der Front wandern.

Die Laufzeit im basischen Fließmittel betrug 1 1/2 Stunde gegenüber 16 Stunden bei der Papierchromatographie (HARTMANN), im sauren Fließmittel 3o Minuten.

Abb. 3: Trennung des Phenolgemisches auf der Cellulose-Dünnschicht im zweidimensionalen Verfahren mit den Fließmitteln Isopropylalkohol, Ammoniak, Wasser (8:1:1) und Benzol, Eisessig, Wasser (125:72:3).
Die Anfärbung erfolgt mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens.
Substanzen: α - Resorcylsäure (1), Vanillinsäure (2), Ferulasäure (3), p-Hydroxybenzoesäure (4), Vanillinmandelsäure (5), p-Cumarsäure (6), β - Resorcylsäure (7), m-Hydroxymandelsäure (8), o-Cumarsäure (9), p-Hydroxyphenylmilchsäure (10), m-Hydroxyphenylessigsäure (11b), p-Hydroxyphenylessigsäure (11a), m-Hydroxybenzoesäure (11c), p-Hydroxyphenylpropionsäure (12), o-Hydroxyphenylessigsäure (13), o-, p-Kresol, α-Naphthol, Phenol (14).

Trennung von Phenolen auf Kieselgel G - Schichten.

Es wurden Kieselgel - G-Schichten in einer Dicke von o,25 mm nach den Angaben von STAHL und RANDERATH hergestellt und für 12 Stunden an der Luft getrocknet.

Die Substanzen wurden bandförmig 1,5 cm vom unteren Rand entfernt aufgetragen und aufsteigend chromatographiert. Die Chromatographie erfolgte mit folgenden Fließmitteln:

1) Benzol: Eisessig 9 : 1 (TAUTZ und SCHMID) zweimal aufsteigend,
2) Isopropylalkohol, Essigsäureäthylester, Ammoniak, Wasser 45:3o:17:8 (TAUTZ und SCHMID),
3) die Kombination der Fließmittel 1 und 2: Mit dem Fließmittel 1 wird aufsteigend bis zu einer Höhe von 8 cm und anschließend nach kurzer Zwischentrocknung des Chromatogramms, zweimal mit dem Fließmittel 2 bis zu einer Höhe von 15 cm chromatographiert (TAUTZ und SCHMID),
4) Benzol, Eisessig, Methanol 9o : 1o : 8.

Die Abbildungen 4 - 7 und die zugehörige Tabelle 2 zeigen die Ergebnisse der Chromatographie eines Phenolgemisches von 24 Phenolen mit den Fließmitteln 1 - 4.

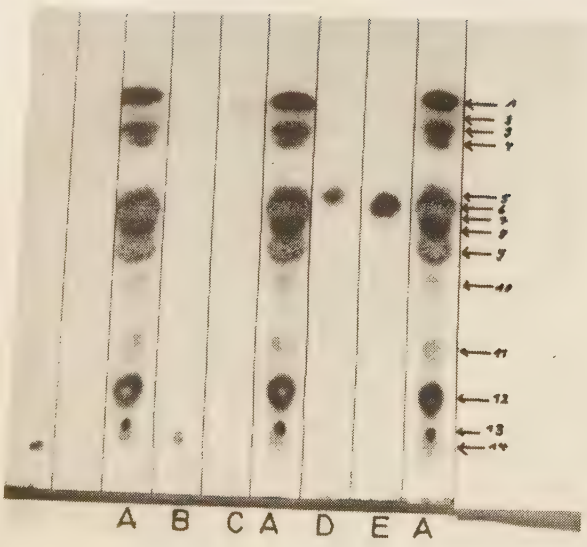


Abb. 4: Fließmittel Benzol, Eisessig 9:1, 2 x aufsteigend, Sprühreagens p-Nitroanilin.
A: Testgemisch, B: m-Hydroxymandelsäure, C: o-Cumarsäure, E: 3,4-Dihydroxybenzoesäure, F: Gentisinsäure.

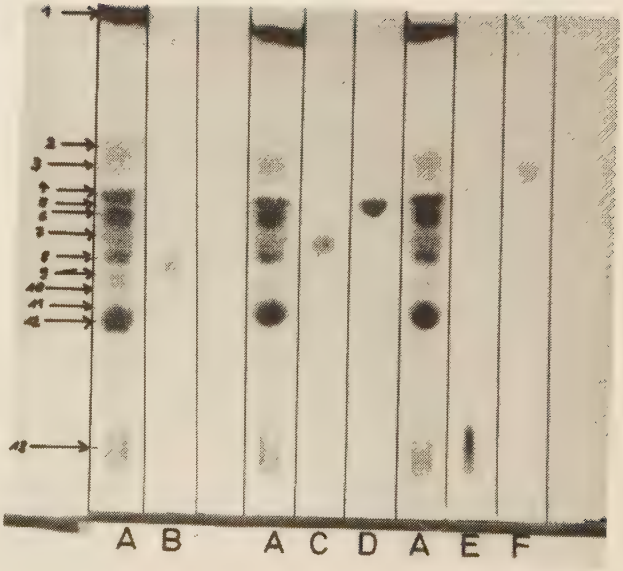


Abb. 5: Fließmittel Isopropylalkohol, Essigsäureäthylester, Ammoniak, Wasser 45:3o:17:8.
A: Testgemisch, B:m-Hydroxymandelsäure, C: o-Cumarsäure, D: m-Cumarsäure, E: 3,4-Dihydroxybenzoesäure, F: Gentisinsäure.

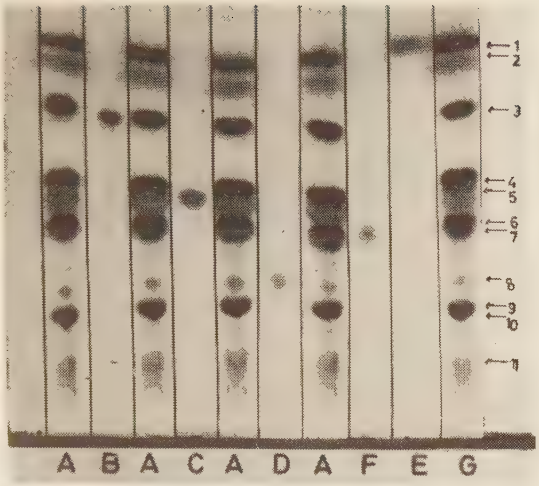


Abb. 6: Fließmittel-Kombination: Isopropylalkohol, Essigsäureäthylester 45:30:17:8 bis zu einer Höhe von 8 cm, anschließend Benzol, Eisessig 9:1, 2 x aufsteigend bis zu einer Höhe von 15 cm. Sprühreagens: p-Nitroanilin. A: Testgemisch, B: Ferulasäure, o-Hydroxyphenylessigsäure, D: p-Hydroxyphenylmilchsäure, E: o-Kresol, F: p-Hydroxyphenylessigsäure.

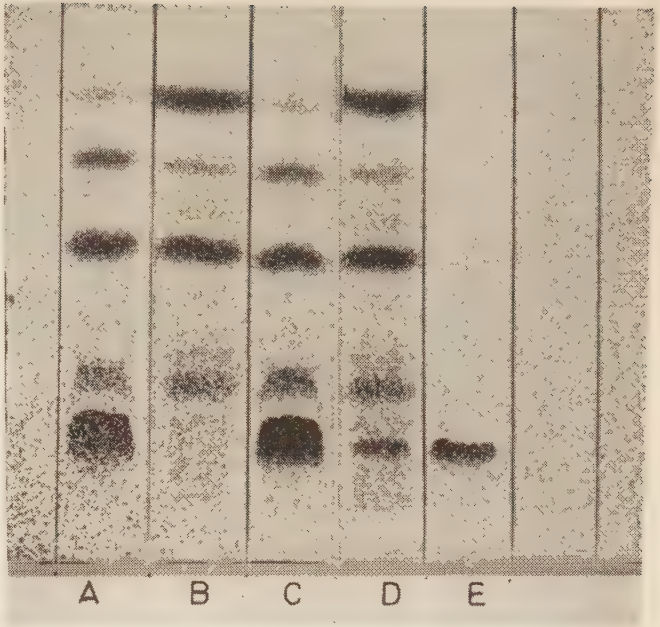


Abb. 7: Fließmittel Benzol, Eisessig, Methanol 90:10:8. A: entspricht 2 ml Urin eines Pat. im Coma hepaticum (W.M. 6.6.66), Stadium III. B: gesunder Erwachsener (U.St. 17.4.67), C: Coma hepaticum (W.M. 6.6.66), D: gesunder Erwachsener + 10 µg p-Hydroxyphenylmilchsäure. E: p-Hydroxyphenylmilchsäure als Reinsubstanz. Sprühreagens: 1-Nitroso-2-Naphthol.

Tabelle 2: Chromatographie der Phenole auf Kieselgel - G - Schichten.
Testgemische (zu den Abbildungen 4 - 7).

abgrenzbare Fraktionen	Rf-Werte	Substanzen
Zu Abb. 4:		
1.	o,94 - o,99	o-Kresol, 1-Naphthol
2.	o,91 - o,94	Phenol, o-Hydroxybenzoesäure, p-Kresol
3.	o,87 - o,91	Vanillinsäure
4.	o,84 - o,87	Ferulasäure
5.	o,69 - o,74	o-Cumarsäure
6.	o,68 - o,69	m-Cumarsäure
7.	o,65 - o,68	o-Hydroxyphenylessigsäure, p-Hydroxybenzoesäure, p-Hydroxyphenylpropionsäure, p-Cumarsäure, m-Hydroxybenzoesäure
8.	o,61 - o,64	α - Resorcylsäure
9.	o,52 - o,59	m-, p-Hydroxyphenylessigsäure,
1o.	o,43 - o,49	Gentisinsäure
11.	o,26 - o,32	3,4 - Dihydroxybenzoesäure
12.	o,12 - o,27	β - Resorcylsäure
13.	o,o4 - o,o8	Vanillinmandelsäure
14.	o,oo - o,o5	m-Hydroxymandelsäure, p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure, p-Hydroxyphenylmilchsäure
Zu Abb. 5:		
1.	o,94 - o,99	o- u. p-Kresol, Phenol, 1-Naphthol
2.	o,65 - o,7o	o-Hydroxyphenylessigsäure
3.	o,6o - o,65	Gentisinsäure
4.	o,56 - o,59	m-Cumarsäure
5.	o,55 - o,56	p-Hydroxyphenylpropionsäure
6.	o,49 - o,53	p-Cumarsäure, 3-Resorcylsäure, m-Hydroxybenzoesäure
7.	o,46 - o,49	o-Cumarsäure, m-Hydroxyphenylessigsäure, p-Hydroxyphenylessigsäure, p-Hydroxyphenylmilchsäure.
8.	o,43 - o,46	Ferulasäure

abgrenzbare Fraktionen	Rf-Werte	Substanzen
9.	o,38 - o,42	m-Hydroxymandelsäure
1o.	o,36 - o,38	p-Hydroxybenzoesäure
11.	o,31 - o,34	Vanillinsäure, Vanillinmandelsäure
12.	o,28 - o,31	⍺ - Resorcylsäure
13.	o,oo - o,o5	3,4-Dihydroxybenzoesäure

Zu Abb. 6:

1.	o,95 - o,99	o-Kresol, 1-Naphthol,
2.	o,89 - o,95	p-Kresol, Phenol
3.	o,72 - o,81	Ferulasäure, Vanillinsäure
4.	o,57 - o,62	o-, m-, p-Cumarsäure
5.	o,51 - o,57	o-Hydroxyphenylessigsäure, p-Hydroxyphenylpropionsäure, m-Hydroxybenzoesäure
6.	o,45 - o,49	m- u. p-Hydroxyphenylessigsäure, ß-Resorcylsäure
7.	o,42 - o,45	Gentisinsäure
8.	o,29 - o,33	p-Hydroxyphenylmilchsäure
9.	o,22 - o,26	ß - Resorcylsäure
1o.	o,19 - o,21	Vanillinmandelsäure
11.	o,o4 - 1,1o	3,4-Dihydroxybenzoesäure

abgrenzbare Substanzen	Rf-Werte
Zu Abb. 7:	
p-Hydroxyphenylessigsäure	o,36
p-Hydroxyphenylmilchsäure	o,11
p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure	o,17 (Schweifbildung + Zersetzung in pHPES)
p-Hydroxyphenylpropionsäure	o,43

2. Chromatographie der einfachen Phenole.

Imprägnierte Celluloseschichten.

15 g Cellulosepulver werden mit 9o ml $CaCl_2$-Lösung kräftig durchgeschüttelt und in üblicher Weise auf 5 vorbereitete Glasplatten mit dem Desaga-Streichgerät in einer Schichtdicke von o,25 mm aufgetragen. Nach Trocknen an der Luft werden die Schichten im Exsiccator bis zur Benutzung aufbewahrt.

Vor Gebrauch werden an den beiden seitlichen und am oberen Rand ein ca. 1 cm breiter Streifen der Celluloseschicht mit dem Spatel abgeschabt und die Schicht mit 1o - 15 ml Wasser gleichmäßig besprüht. Anschließend wird ein PVC-Rahmen um die Celluloseschicht gelegt, so daß er die abgeschabten Bezirke bedeckt, eine zweite Platte wird über dem Rahmen festgeklammert. Hierdurch entsteht eine an drei Seiten geschlossene feuchte Kammer.

Das Substanzgemisch wird 1,5 bzw. 2 cm vom unteren Rand aufgetragen. Als Fließmittel wird Cyclohexan, Diäthylamin (9 : 1) verwandt. Gleich nach der Entnahme aus dem Entwicklungsgefäß, ohne Trocknung, muß das Chromatogramm mit dem diazotierten Sulfanilsäure-Reagens besprüht werden. Die Farben sind nicht lange haltbar. Das Ergebnis der Trennung der Reinsubstanzen Phenol und p-Kresol zeigt die Abb. hierbei hat Phenol einen Rf-Wert von o,32 und p-Kresol von o,56. Die Rf-Werte sind vom Wassergehalt der Celluloseschicht sehr abhängig.

Methode zur quantitativen Bestimmung der p-Hydroxyphenylessigsäure und der p-Hydroxyphenylmilchsäure.

5 oder 10 ml des 24-Std. Urins werden nach dem beschriebenen Verfahren zur Extraktion und Anreicherung für Phenolsäuren behandelt. Der Trockenrückstand wird in 1 ml Methanol aufgenommen. 0,1 ml der Methanollösung werden mit einer Spezialpipette auf Kieselgel - GF_{254}-Schichten aufgetragen. Die Chromatographie erfolgt mit dem Fließmittel Benzol, Methanol, Eisessig (90:10:8). Nach dem Trennvorgang werden die Schichten für 3o Minuten im Trockenschrank bei 50°C getrocknet.

Die Lokalisation der Metabolite erfolgt anhand von Leitchromatogrammen (Reinsubstanzen und Extrakt) unter dem UV-Licht (Hanau-Lampe) und nach Anfärbung mit dem 1-Nitroso-2-Naphthol-Reagens. Die metabolithaltigen Zonen lassen sich mit dem Spatel leicht abheben, wenn das Chromatogramm vorher mit Wasser besprüht wurde. Die Elution erfolgt im Reagenzglas mit 2 ml H_2O. Die Farbreaktion wird in dem Gemisch aus Kieselgel, Phenol und Wasser mit dem vorne beschriebenen 1-Nitroso-2-Naphthol-Reagens durchgeführt. Anschließend wird die wässrige Phase bei hoher Umdrehungszahl zentrifugiert, so daß das Kieselgel sedimentiert. Der Überstand wird dekantiert und die Extinktion im Eppendorf-Photometer bei der Wellenlänge von 492 nm. Schichtdicke 10 mm.

Diskussion der Methode.

Spezifität.

Die chromatographische Identität und Einheitlichkeit der getrennten Substanzen wurde durch die Rechromatographie auf Celluloseschichten gesichert.

Empfindlichkeit.

Für 15 µg/ml beträgt die mittlere Extinktion o,o7 für p-Hydroxyphenylessigsäure und o,o65 für p-Hydroxyphenylmilchsäure.

Eichreihe.

Das Lambert-Beersche Gesetz wird mindestens bis zu einer Konzentration von 60 µg/ml befolgt.

Haltbarkeit der Farbe.

Die Extinktion ist für mindestens 2 Stunden konstant.

Reproduzierbarkeit.

Der mittlere Fehler betrug bei einer Vierfachbestimmung, bei der die Proben den gesamten Arbeitsgang getrennt durchliefen und auf den gleichen Platten chromatographiert wurden ± 5 für die p-Hydroxyphenylessigsäure und die p-Hydroxyphenylmilchsäure. Bei Auftragen der Extrakte auf verschiedene Platten ± 8 % für die p-Hydroxyphenylessigsäure und die p-Hydroxyphenylmilchsäure.

Wiederauffindung.

Die Wiederauffindung der Reinsubstanz aus wässriger Lösung nach Extraktion und dünnschichtchromatographischer Trennung betrug im Mittel 93 % für die p-Hydroxyphenylessigsäure und 65 % für die p-Hydroxyphenylmilchsäure.

III Untersuchungen über die Phenolsäureausscheidung im Urin Gesunder und Leberkomakranker.

A. Gesunde.

Wir untersuchten das Phenolsäuremuster bei vier gesunden männlichen Vergleichspersonen im Alter von 26 - 45 Jahren. Die quantitative Bestimmung der p-Hydroxyphenylessigsäure wurde bei drei gesunden Studenten im Alter von 24 - 28 Jahren durchgeführt.

B. Leberkomakranke.

Das Leberkoma wird von KALK, WILDHIRT, MARTINI, SHERLOCK und MÜTING nach seiner Ätiologie in

A. das Leberausfallskoma (exogenes Leberkoma)

B. das Leberzerfallskoma (endogenes Leberkoma) und

C. das Mischbild von A. und B.

unterteilt.

Ein Leberausfallskoma oder exogenes Leberkoma entsteht im Gefolge einer Shunt-Ausbildung zwischen dem Blut der Vena

portae und der unteren Hohlvene. Um ein reines Leberausfallskoma handelt es sich bei den Komata, die im Anschluß an die Bildung einer Eck'schen Fistel entstehen. Hierbei wird die Vena portae ligiert und eine Verbindung des portalen Systems mit der unteren Hohlvene geschaffen. Die häufigste Grundkrankheit, die zur Ausbildung dieser Komaform führt, ist die sich langsam entwickelnde Lebercirrhose, insbesondere die Alkoholcirrhose. Über die Kollateralen können hirntoxische Verbindungen, die normalerweise in der Leber entgiftet werden, direkt in den großen Kreislauf gelangen und somit das Gehirn direkt schädigen.

Das Leberzerfallskoma ist bedingt durch einen massiven Zerfall von Leberzellen. Die häufigsten Grundkrankheiten sind die Hepatitis epidemica und die Serumhepatitis. Ein Leberzerfall kann außerdem durch schwere Vergiftungen wie mit Knollenblätterpilzen, Phosphor, Arsen und Tetrachlorkohlenstoff ausgelöst werden. Bei dieser Komaform könnte die auslösende Ursache in dem Versagen der Leber, die Entgiftungsreaktionen durchzuführen, liegen.

Bei den Mischformen von Leberzerfalls- und Leberausfallskoma handelt es sich vor allem um akute Schübe einer posthepatitischen, einer cholangitischen oder einer Alkoholcirrhose, die mit teilweise massiven Leberzellnekrosen einhergehen.

Nach dem Schweregrad des Coma hepaticum unterscheidet man im deutschen Schrifttum vier Stadien:

Stadium 0 : normal

Stadium I : geringe Störung der Bewußtseinslage mit verminderter Merkfähigkeit, beginnender Tremor,

Stadium II : grobe Störung der Bewußtseinslage, zeitliche und örtliche Desorientiertheit, starker Tremor,

Stadium III: tiefe Bewußtlosigkeit.

Von uns wurde die Phenolsäureausscheidung bei 11 Patienten (5 Frauen und 6 Männer im Alter von 33 - 83 Jahren) im Coma hepaticum bestimmt. Bei 6 dieser Patienten handelte es sich um ein exogenes Coma, bei den übrigen 5 lag ein endogenes Leberkoma vor. Von den Patienten der I. Gruppe (exogenes Leberkoma) wurden zwei im Stadium I-II, zwei im Stadium II und sechs im Stadium III untersucht. Von den Patienten der II. Gruppe (endogenes Leberkoma) befanden sich zur Zeit der Untersuchung vier im Stadium I und I-II und fünf im Stadium III. Bei zwei Patienten jeder Gruppe (exogenes Leberkoma Stadium III und endogenes Leberkoma Stadium II und III)wurde die p-Hydroxyphenylessigsäure und die p-Hydroxyphenylmilchsäure quantitativ bestimmt. Über die klinischen und pathologisch-anatomischen Diagnosen der einzelnen Patienten geben die Tabellen 3 und 4 Auskunft.

Tabelle 3: Klinische und pathologisch-anatomische Diagnosen der Gruppe I, exogenes Leberkoma.

Lfd. Nr.	Name	Krbl.Nr.	Alter	klinische Diagnose	path.-anatom. Diagnose
1.	F.Gertrud	1363/67	7o	Coma hepaticum bei Lebercirrh. nach rezidiv. Cholangiitiden	Ausgebildete noch fortschr. Lebercirrh. mi kräftiger Chol stase, Zellnek rosen nicht selten.
2.	H. Willi	856/66	61	dekomp.,progre- diente, posthep. Lebercirrhose, Coma hepaticum, diab.Stoffwech- sellage	im Fortschreit begriffene Cir mit Einzelzell nekrosen
3.	K. Georg	399/68	58	dekomp.Leber- cirrhose, Coma hepaticum	
4.	M. Josef	17o/65	5o	dekomp.posthep. Lebercirrhose, Ö-Varizenblu- tung, Coma hepaticum	postnekrot., atrophische Lebercirrhose, Ö-Varizen- blutung
5.	M. Willi	389/66	64	dekomp. Alkohol- cirrhose, Coma hepaticum, Herz- dekompensation	
6.	Sch. (Tüb)			Coma hepaticum, Lebercirrhose.	

Tabelle 4: Klinische und pathologisch-anatomische Diagnosen der Gruppe II, endogenes Leberkoma.

Lfd. Nr.	Name	Krbl.Nr.	Alter	klinische Diagnose	path.-anatom. Diagnose
1.	B. Alma	-	-	perakute Leberdystrophie nach Hepatitis. Lebercoma.	-
2.	Br. Hildegard	515/67	33	perakute Leberdystrophie, Zustand n.Nierenbeckenplastik, Lactatacidose	-
3.	E. Lina	388/68	83	Großkav.Oberlappen-Tbc, diab.mel., Leberschaden -Serum-Hepatitis (?),chron. Harnwegsinfekt	
4.	G. Rudolf	247/65	64	akute gelbe Leberdystrophie	akute gelbe Leberatrophie cholämische Nephrose
5.	Z. Anna	1508/66	79	Coma hep., schwere Hepatitis	subakute Leberdystrophie mit Cholestase

ERGEBNISSE

A. Gesunde.

1. Phenolsäuren.

Die Ergebnisse der Untersuchung des Phenolsäuremusters Gesunder sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

Abb. 8 zeigt das Chromatogramm des Phenolsäuremusters eines Gesunden. (T.P. Nr. 3). Sie vermittelt einen Eindruck von der Vielzahl der im Urin vorkommenden ätherextrahierbaren diazopositiven Substanzen (Phenolderivate).

Abb. 8: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Anfärbung mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Phenolkonzentration entspricht dem Gehalt von o,5 ml Urin (T.P. Nr. 3, 22.3.68). p-Hydroxybenzoesäure (3), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), Vanillinsäure (8), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11).

Tabelle 5: Ätherlösliche, diazopositive Substanzen bzw. Substanzgemische aus dem Urin Gesunder, die mit Hilfe der Cellulose-Dünnschichtchromatographie getrennt wurden.

Nr. der Substanz, bzw. Substanzgruppe	Chemische Bezeichnung	Rf-Werte in den Fließmitteln a. sauer	b. basisch	Farbe mit diaz. Sulfanilsäure	1 S. G.	2 S. U.	3 P. T.	4 T. P.
51	1-Resorcylsäure	o,o5	o,11	gelb	o	+	o	o
52		o,o7	o,16	rot	o	o	+	o
53	p-Hydroxybenzoesäure	o,72	o,27	gelb	o	+	+	o
[illegible]	Homovanillinsäure, p-Cumarsäure	o,8o	o,33	violett	+	+	+	+
5	p-Hydroxyphenylessigsäure	o,7	o,44	rot	+	+	+	+
56	m-Hydroxyphenylessigsäure	o,69	o,47	gelb	+	o	(+)	o
6		o,5	o,29	orange	+	+	+	+
7	m-Hydroxymandelsäure m-Hydroxyhippursäure	o,24	o,27	gelb-orange	+	+	+	+
8	Vanillinsäure	o,85	o,19	orange	+	+	+	o
9		o,34	o,37	gelb	+	+	+	+
1o	Ferulasäure	o,85	o,27	violett	o	o	o	o
11	p-Hydroxyphenylmilchsäure	o,32	o,43	rot	o	o	(+)	+
13		o,17	o,19	braunrot	o	+	+	o
14	5-Hydroxyindolessigsäure	o,36	o,26	braunrot	+	+	+	+
16		o,45	o,18	orange	o	+	+	o
2o	Phenol, p-Kresol	o,99	o,98	rot-violett-braun	+	+	+	+
21	p-Hydroxyphenylpropionsäure	o,81	o,44	orange	+	+	o	o
22		o,8	o,61	orange	+	+	o	o
23		o,65	o,25	gelb	o	+	o	o
24		o,49	o,71	rot	o	o	+	o
26		o,3	o,15	rot	o	o	+	o
3o		o,39	o,31	orange	o	+	+	o
31		o,66	o,22	orange	o	o	+	o
32		o,61	o,13	orange	o	o	+	o
33		o,9	o,53	gelb	o	o	+	o
34	o-Hydroxyphenylessigsäure	o,75	o,7	gelb	o	+	+	o

2. Quantitative Bestimmung der p-Hydroxyphenylessigsäure

Lfd.Nr.	Name	Gesamturinmenge	mg/Tag
1	T.K.	151o	19,2
2	K.L.	92o	14,3
3	H.H.	83o	17,1
4	F.B.	93o	15,7

B. Leberkomakranke.

Gruppe I (exogenes Leberkoma), Stadium I und I-II:

Fall Nr. 1, F. Gertrud, geb. 16.2.98, Krbl.Nr. 1363/67

Stationäre Behandlung: 23.1o.1967 - 21.12.1967
4. 2.1968 - 13. 2.1968

Diagnose: Leberkoma Stadium I-II bei fortschreitender Lebercirrhose.

1928 traten zum erstenmal Gallenkoliken auf. 1947 wurde sie wegen rezidivierender Gallenkoliken cholezystektomiert. Nach den Angaben der Patientin habe es sich damals um eine eitrige Cholecystitis mit Cholelithiasis gehandelt. Nach der Operation war sie häufiger ikterisch, zeitweilig wurde sie stationär mit Duodenalspülungen behandelt, woraufhin jedesmal der Ikterus verschwand. Am 23.1o.67 wurde die Patientin zum erstenmal in der I. Medizinischen Klinik aufgenommen. Es bestand ein starker Ikterus, Gelenkbeschwerden, Blähungen und Aufstoßen. Damals wurde die Diagnose eines frischen Schubes einer chronischen Hepatitis gestellt. Die Patientin konnte am 21.12.67 im wesentlich gebesserten Zustand nach Hause entlassen werden.
Am 5.2.68 mußte die Patientin erneut stationär aufgenommen werden. Von den Angehörigen wurde berichtet, daß sie seit 14 Tagen ikterisch sei und seit 2 Tagen fast nichts mehr esse.

Bei der Untersuchung war die Patientin kaum ansprechbar und sehr unruhig. Die Atmung war vertieft. Es bestand ein hochgradiger Ikterus der Haut und Schleimhäute und der Sklera. Der Leib war stark aufgetrieben, ein geringgradiger Ascides war nachweisbar. Die Leber war derb,um 3 Qf. vergrößert unter dem rechten Rippenbogen zu tasten.

Bei den Laboruntersuchungen betrug das Gesamteiweiß 1o g%, Albumine 3o %, Gammaglobuline 59,5 %. Das Gesamtbilirubin war auf 3o mg%, die SGPT auf 116 IE erhöht. Das Serum-Kalium war mit 3,7 mval/L deutlich erniedrigt. Der Quickwert lag bei 25 %. Im Urin konnte eine vermehrte Ausscheidung von Bilirubin und Urobilinogen nachgewiesen werden.

Unter der sofort eingeleiteten Therapie mit 3 x 5oo ml Tutofusin CH, 4oo mg Urbason und 6 g Bykomycin kam es zu einer vorübergehenden Besserung. Die Patientin war wieder ansprechbar, das Bilirubin ging auf 24 mg% zurück, die SGPT auf 135 IE und die Urinausscheidung stieg auf 22oo ml an. Wegen einer bestehenden Alkalose und einer Hypokaliämie wurde mit Kaliumchlorid substituiert. Um den 1o.2. trat eine zunehmende Verschlechterung des Krankheitsbildes ein. Der

Quickwert war auf 16 % abgesunken. Die Urinausscheidung ging immer mehr zurück. Es entwickelten sich generalisierte Oedeme. Die Leber war nicht mehr tastbar. In den folgenden Tagen wurde die Patientin tief comatös, es kam zu massiv wässrigen Durchfällen und flächenhaften Hautblutungen. In der Nacht vom 12./13.2. traten Teerstühle auf. Die tief comatöse Patientin verstarb am 13.2.1968 im Kreislaufkollaps.

Im postmortal entnommenen Leberpunktionszylinder fand sich eine ausgebildete noch fortschreitende Lebercirrhose mit kräftiger Cholestase. Es ließen sich vermehrt Zellnekrosen nachweisen.

Phenolsäuremuster.

Das Phenolsäuremuster wurde einen Tag nach der stationären Aufnahme am 6.2.68 untersucht, zu einem Zeitpunkt, an dem sich die Patientin im Leberkoma Stadium I-II befand. Die Abb. 9 zeigt das Chromatogramm.

Im Vergleich mit der Phenolsäureausscheidung der gesunden Vergleichspersonen fällt die geringe Anzahl der Phenolderivate auf. Selbst die bei Gesunden regelmäßig vorhandenen Substanzflecke Nr. 6 (Rf-Werte o,29/o,5o) und Nr. 9 (Rf-Werte o,27/o,24) lassen sich nicht nachweisen. Die Konzentration der p-Hydroxyphenylessigsäure scheint geringgradig vermehrt. Die p-Hydroxyphenylmilchsäure, die auf den Chromatogrammen der Gesunden nicht nachgewiesen werden kann, erscheint als neue Substanz in einer relativ hohen Konzentration. Die Homovanillinsäure; die 5-Hydroxyindolessigsäure- sowie die p-Hydroxybenzoesäure-Ausscheidung zeigt gegenüber der Normalen keine Änderung.

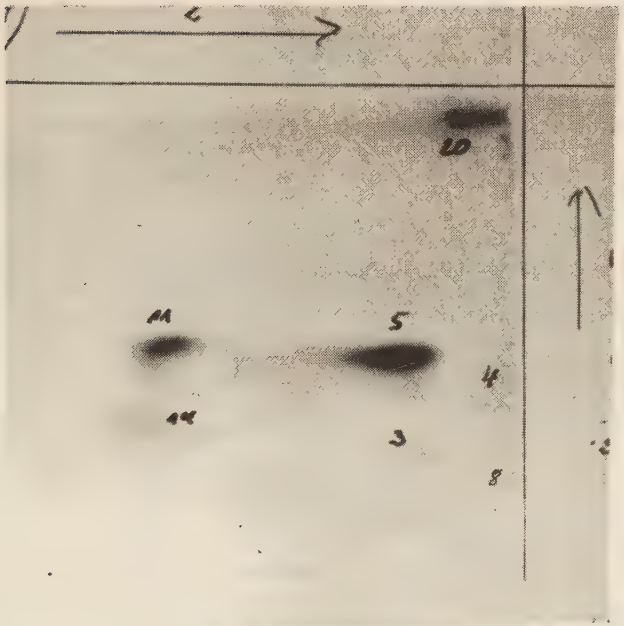


Abb. 9: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Exogenes Leberkoma Stadium I-II. Anfärbung mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Es wurde ein Ätherextrakt von o,5 ml Urin chromatographiert. Pat. Nr. 1, F.G. p-Hydroxybenzoesäure (3), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), Vanillinsäure (8), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), 5-Hydroxyindolessigsäure (14), Phenol, p-Kresol etc. (2o).

Fall Nr. 3, K. Georg, geb. 19.2.1o, Krbl.Nr. 399/68.

Stationäre Behandlung: 19.3.1968 - 24.4.1968.

Diagnose: Leberkoma Stadium I-II bei dekompensierter Lebercirrhose.

Vor fünf Wochen bemerkte die Ehefrau eine Gelbfärbung der Skleren. Seit dieser Zeit fiel dem Patienten auf, daß der Urin häufig dunkel und der Stuhl hell gefärbt waren. Er fühlte sich müde und abgeschlagen. Der Appetit war schlecht, insbesondere bestand eine Abneigung gegenüber Fleisch und Wurst. Ein Gewichtsverlust war ihm nicht aufgefallen.

Er litt unter Völlegefühl und Blähungen. Eine verstärkte Blutungsneigung bestand nicht. In der Anamnese werden keine früheren Lebererkrankungen angegeben. Der Alkoholkonsum war sehr hoch mit 2 1/2 - 3 Liter Bier/Tag.

Bei der Untersuchung macht der Patient einen verlangsamten Eindruck. Der Fingerzeigeversuch war nur sehr unsicher ausführbar. Es bestand ein deutlicher Skleren- und ein leichter Hautikterus, beiderseits Palmarerytheme, typische Spider naevi waren nicht zu erkennen, jedoch im Thoraxbereich mehrere Venektasien. Die Schambehaarung war typisch männlich. Das Abdomen war meteoristisch aufgetrieben und die Leber in der MCL um vier Qf. vergrößert und scharfrandig zu tasten. Ein geringgradiger Ascites war nachweisbar. Hochgradige Beinoedeme.

Laborbefunde: Das Gesamteiweiß betrug bei der Aufnahme 6,7 g%, Albumine 38 %, Gammaglobuline 4o,2 %. Das Gesamtbilirubin war auf 5,6 mg% und die alk. Phosphatase auf 16,3 E/L erhöht. Der Prothrombinwert war mit 46 % deutlich vermindert.

Es wurde eine Therapie mit Lävulose, Ornicetil und Aldiene-Saltucin eingeleitet. Unter dieser Therapie wurden die Oedeme gut ausgeschwemmt und es kam zu einer Besserung des Allgemeinbefindens. Nach ca. 1o Tagen verschlechterte sich das Krankheitsbild zusehends. Auch auf Gaben von Tutofusin-CH-Infusionen und Actihämyl konnte nur vorübergehend eine Besserung erzielt werden. Am 24.4. fiel der Patient in eine tiefe Bewußtlosigkeit. Am gleichen Tag verstarb er unter den Zeichen des Kreislaufversagens.

Untersuchung des Phenolsäuremusters.

Die Ausscheidung der Phenolsäuren wurde am dritten Behandlungstag untersucht, als die Therapie mit Lävuloseinfusionen, Ornicetyl und Aldiene-Saltucin bereits eingeleitet war. Der Patient befand sich im Leberkoma Stadium I.

Die Abb. 1o zeigt die gleichen Veränderungen wie Fall Nr. 3. Auch hier fällt die Abnahme der Anzahl an diazopositiven Substanzen auf. Gleichzeitig besteht eine deutliche Zunahme der Konzentration der p-Hydroxyphenylessigsäure und p-Hydroxyphenylmilchsäure.

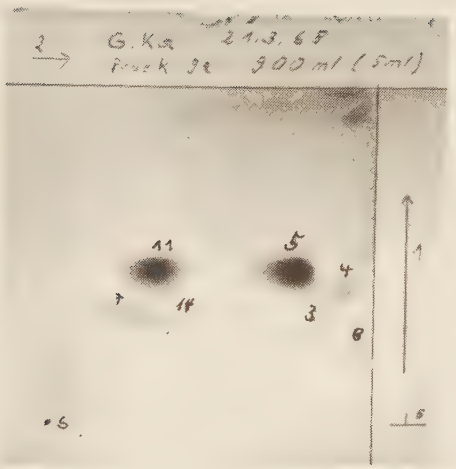


Abb. 1o: Trennung der Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Exogenes Leberkoma Stadium III. Anfärbung mit diaz.Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht o,5 ml Urin (K.G. Nr. 3).
p-Hydroxybenzoesäure (3), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), Vanillinsäure (8), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), 5-Hydroxyindolessigsäure (14), Phenol, p-Kresol (2o).

Stadium II:

Fall Nr. 2, H. Willi, geb. 12.1.o5, Krbl. Nr. 856/66

Stationäre Behandlung: 13.7.64 - 25.8.64
25.6.66 - 19.7.66

Diagnose: Dekompensierte, progrediente Lebercirrhose, Coma hepaticum.

Bis 1952 war der Patient nie ernstlich krank. 1952 trat erstmals eine Duodenalulcus auf. Wegen häufiger Rezidive wurde 1964 eine 2/3-Resektion des Magens nach Billroth II durchgeführt. Postoperativ fiel ein deliranter Zustand auf, so daß die Verlegung in die Psychiatrische Klinik notwendig wurde. Hier entwickelte sich nach Abklingen des Delirs, über dessen Ursache von seiten der Psychiater keine sichere Aussage gemacht werden konnte, über ein kurzes stuporös negativistisches Stadium das Vollbild einer agitierten Depression. Wegen des gleichen Krankheitsbildes wurde der Patient bereits vor sechs Jahren in derselben Klinik behandelt. Am 13.7.64 wurde der Patient erstmals in der I. Med.Klinik wegen eines plötzlich aufgetretenen Fiebers, stechender Schmerzen über der rechten Brust, Husten und Auswurf aufgenommen. Hier wurden die Diagnosen Bronchopneumonie, Lebercirrhose, wohl auf dem Boden einer anikterischen Hepatitis, diabetische Stoffwechsellage und Zustand nach Magenresektion gestellt.
Am 25.6.66 wurde der Patient erneut stationär aufgenommen. Einen Tag vorher war ein starker Ikterus der Skleren aufgefallen. Wochen vorher litt er gelegentlich unter Druckgefühl im rechten Oberbauch und Meteorismus, er fühlte sich müde und abgeschlagen, war häufig zerstreut und sehr vergeßlich.

Bei der klinischen Untersuchung war der Patient zeitlich und örtlich voll orientiert, die Sprache war verlangsamt, außerdem fiel eine geringe Merkschwäche auf. Die Skleren und die Haut waren ikterisch, der Hautturgor vermindert. Palmarerytheme an beiden Handflächen. Spider naevi ließen sich nachweisen. Die Leber überragte den Rippenbogen um 2 Qf, die Konsistenz war derb, die Milz war 2 Qf unter dem linken Rippenbogen zu tasten. Es fand sich eine ausgebildete Bauchglatze, die Fingernägel waren rissig, die Zunge war glatt atrophisch.

Bei den Laboruntersuchungen betrug das Gesamteiweiß 9,1 g%, Albumine 25 %, Gammaglobuline 52 %, das Gesamtbilirubin 4,o mg%, die SGPT 12o mU und der AST 33o E.

Es wurde sofort eine Therapie mit Lävuloseinfusionen, Konakion, Arginin-Aspartat und Bykomycin und eiweißarme Ernährung eingeleitet. Unter dieser Therapie blieb das Krankheitsbild zunächst stationär. Seit dem 8.7. verschlechterte sich der Zustand zusehends. Am 13.7. fiel er in eine tiefe Bewußtlosigkeit. Es bestand eine metabolische Alkalose

und eine Hypokaliämie. Unter der Therapie mit Urbason und Kaliumsubstitution sowie Lävulose und Tutofusin-Infusionen kam es zu einer vorübergehenden Besserung. Der Patient wurde wieder ansprechbar, fiel aber am 16.7. erneut in eine tiefe Bewußtlosigkeit. Am 19.7. verstarb der tief comatöse Patient im Kreislaufkollaps.

Die Histologie des postmortal entnommenen Leberpunktionszylinders zeigte eine fortschreitende Lebercirrhose mit massiver Cholestase. Zwischen ausgedehnten, zellreichen Bindegewebsfeldern fanden sich nur kleine Leberparenchyminseln. Die massiv verbreiterten Bindegewebssepten wiesen zahlreiche kleine Gallengänge mit Gallenzylindern auf. In den Leberzellen fanden sich zahlreiche Gallethromben und Galletröpfchen. Nekrotische Leberzellen waren gallig imbibiert. Einzelzellnekrosen waren häufig. Die Grenze zwischen den Bindegewebssepten und dem Parenchym war unscharf, es schoben sich fingerförmig kollagenfaserige Septen ins Leberparenchym vor und schnürten Leberzellareale sowie auch einzelne Leberzellen ab. Als Diagnose wurde eine im Fortschreiten begriffene Lebercirrhose mit Einzelzellnekrosen angegeben.

Phenolsäuremuster.

Das Phenolsäuremuster wurde während des letzten stationären Aufenthaltes an drei verschiedenen Tagen, am 12.7., 13.7. und 17.7., bestimmt. Die Abb. 11 zeigt das Chromatogramm vom 12.7.66, einen Tag bevor der Patient tief bewußtlos wurde, zur Zeit dieser Untersuchung befand er sich im Coma Stadium II. Abweichend von der üblichen Extraktionsmethode wurden in diesem Fall 3ml Urin nach Ansäuerung ausgeäthert. Der Trockenrückstand des Äthers wurde in 2 x o,2 ml Aceton gelöst und punktförmig auf die Cellulose-Dünnschicht aufgetragen.
Es fällt wieder die relative Konzentrationszunahme der p-Hydroxyphenylessigsäure und der p-Hydroxyphenylmilchsäure auf. Im Vergleich zu den Phenolsäuremustern bei Leberkomastadium I und I-II ist die Ausscheidung der Phenolsäure vermehrt.

In diesem Fall wurden beide Substanzen quantitativ bestimmt. Die Tagesausscheidung der p-Hydroxyphenylessigsäure betrug 64,9 mg (3,51 mg%) und der p-Hydroxyphenylmilchsäure 288 mg (15,15 mg%).

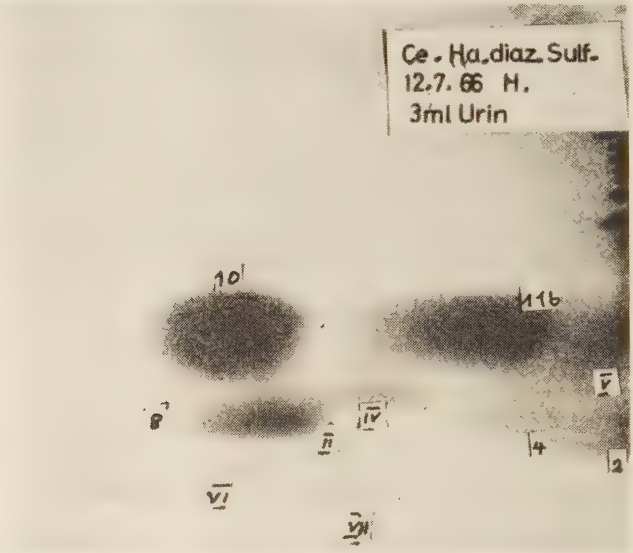


Abb. 11: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Anfärbung mit dem diaz.Sulfanilsäure-Reagens. Exogenes Leberkoma Stadium II. Es wurde der Ätherextrakt von 3 ml Urin chromatographiert. p-Hydroxybenzoesäure (4), Vanillinsäure (2), Homovanillinsäure (V), p-Hydroxyphenylessigsäure (11b), p-Hydroxyphenylmilchsäure (1o).

Exogenes Leberkoma Stadium III.

Phenolsäuremuster des gleichen Patienten (H.Willi) im Coma Stadium III.

Einen Tag später, am 13.7.66, im Stadium tiefer Bewußtlosigkeit wurde erneut das Phenolsäuremuster untersucht. Die Abb. 12 zeigt das Chromatogramm. Es fällt auf, daß nahezu

die gesamte Phenolkonzentration durch die p-Hydroxyphenylmilchsäure und die p-Hydroxyphenylessigsäure gebildet wird, sowie einer Substanzgruppe, die in beiden Fließmitteln an der Front wandert, wobei es sich um einfache Phenole wie Phenol und p-Kresol handeln könnte.

Die letzte Untersuchung der Phenolsäuren wurde zwei Tage vor seinem Tod, am 17.7.66 durchgeführt. Die Abb. 13 zeigt das Chromatogramm. Die Abweichungen der Phenolsäureausscheidung gegenüber Normalen sind noch auffälliger. Es lassen sich praktisch nur vier Substanzflecke nachweisen, wobei die Konzentration sowohl der p-Hydroxyphenylessigsäure als auch der p-Hydroxyphenylmilchsäure gegenüber Abb. 12 noch zugenommen hat.

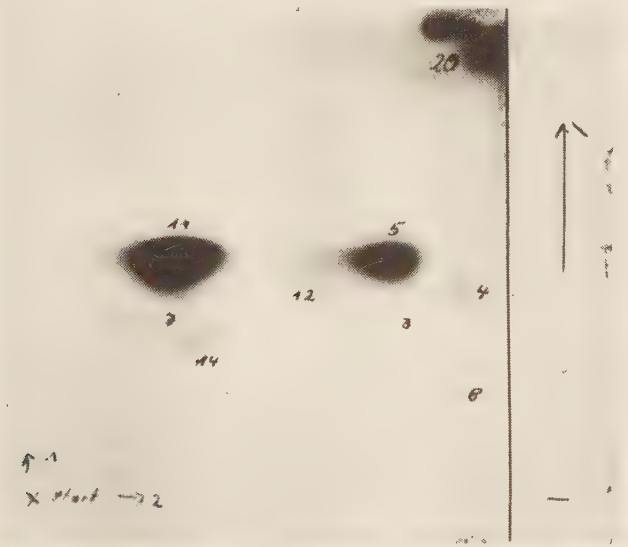


Abb. 12: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Anfärbung mit dem diaz.Sulfanilsäure-Reagens.Exogenes Leberkoma Stadium III. Es wurde der Ätherextrakt von o,5 ml Urin aufgetragen und chromatographiert. Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), 5-Hydroxyindolessigsäure (14).

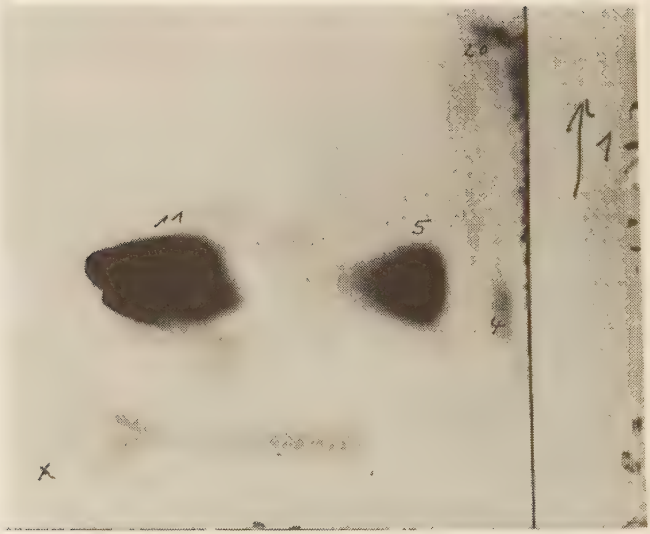


Abb. 13: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Exogenes Leberkoma Stadium III. Anfärbung mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Es wurde der Ätherextrakt von o,5 ml Urin chromatographiert.
Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), p-Hydroxyphenylessigsäure (5).

Fall Nr. 5, M. Josef, geb. 6.4.15, Krbl. Nr. 17o/65

Stationäre Behandlung: 28.1.65 - 14.2.65.

Diagnose: Lebercirrhose, portale Hypertonie, Osophagusvarizenblutung mit anschließendem Coma hepaticum.

In der russischen Kriegsgefangenschaft hatte der Patient schwer gearbeitet und viel gehungert. Wegen einer bestehenden Hungerdystrophie wurde er arbeitsunfähig. 1949 bekam er eine Gelbsucht und Malaria. Die Malariaanfälle hielten bis 1954 an. Seit 1955 fühlte er sich schlecht, er hatte einen Druckschmerz im rechten Oberbauch, zeitweilig eine Schwellung der Unterschenkel. Vom 26.8. - 17.11.64 wurde er im

Sanatorium Bad Salzig behandelt. Hier sei die Diagnose: Aktive Lebercirrhose mit beginnenden Dekompensationszeichen ohne Hinweis für eine Insuffizienz, gestellt worden.

Am 28.1.65 erfolgte die Einweisung in die I. Med. Klinik, weil sich der Zustand des Patienten wesentlich verschlechtert hatte: Fieber bis 40 Grad, Appetitlosigkeit, Schwellung des Bauches, geringes Wasserlassen, Schlaflosigkeit und zunehmende Gelbsucht.

Bei der Aufnahme war der Patient bewußtseinsklar. Haut und sichtbare Schleimhäute ikterisch. Deutliche Spider naevi im Bereich der Brust und des Rückens, Palmarerythem beiderseits. Die Bauchdecken waren aufgetrieben, Ascites nachweisbar, Leber um 3 Qf unter dem rechten Rippenbogen zu tasten, harte Konsistenz, scharfer Rand, druckschmerzhaft. Milz unter dem linken Rippenbogen um 2 Qf vergrößert und druckschmerzhaft palpabel. Starke praetibiale und perimalleoläre Oedeme nachweisbar.

Röntgenologisch ließen sich Ösophagusvarizen darstellen. Laborbefunde: Im Urin wurden Eiweiß, Zucker, Urobilinogen, Bilirubin vermehrt ausgeschieden. Das Serumbilirubin lag bei 8,8 mg%, das Gesamteiweiß bei 6,o g%, Albumine 43,5 %, Gammaglobuline 44,2 %. Die SGPT betrug 41 mU. Der Kaliumwert war mit 3,3 mÄqu/l deutlich vermindert. Der Quickwert betrug 45 %.
Die Behandlung erfolgte mit Lävulose, Vitamin B-Komplex, Vitamin K und C, Hostacortin, Leucomycin, Lasix und Aldosteron sowie einer Kaliumsubstitution. Unter dieser Therapie stieg die Diurese von etwa 7oo ml bis auf Werte von 37oo ml im Laufe der zweiten Woche, dementsprechend nahm der Patient innerhalb von zwei Wochen 18 kg Gewicht ab. Am Anfang der dritten Behandlungswoche verschlechterte sich der Zustand des Patienten zusehends. Der Serumbilirubinwert stieg auf 21 mg%, die SGPT auf 11o mU, der Rest-N auf 52 mg% und das Kalium auf 6,7 mÄqu./l. Am 11.2. trat eine schwere Ösophagusvarizenblutung auf, die zunächst mit konservativen Mitteln zum Stehen gebracht werden konnte. Nach 24 Std. kam es erneut zur Hämatemesis. Parallel mit der Ösophagusvarizenblutung kam es zu einem Zusammenbruch der Leberfunktionen: der Pat. fiel in eine tiefe Bewußtlosigkeit. Die Leber war nicht mehr palpabel, die Gelbsucht nahm wieder zu, laboratoriumsdiagnostisch konnte eine Azotämie und ein praeterminaler Anstieg des Blutammoniaks beobachtet werden. Der Patient starb 3 Tage nach Einsetzen der Blutung.
Die durchgeführte Sektion erbrachte eine postnekrotische atrophische Lebercirrhose und Ösophagusvarizen mit massiver Blutung in den Magen-Darmtrakt, wodurch die klinische Diagnose pathologisch - anatomisch bestätigt wurde.

Das Phenolsäuremuster.

Die Ausscheidung der Phenolsäuren wurde am 12.2.65 untersucht, zu dieser Zeit befand sich der Patient im Coma hepaticum Stadium III. Auch hier findet man die typischen Veränderungen, die p-Hydroxyphenylessigsäure und die p-Hydroxyphenylmilchsäure bilden fast die gesamte Phenolsäureausscheidung. Die Konzentration dieser Säuren ist allerdings nicht so hoch, wie im Fall H.Willi (Fall Nr. 2). Bei der quantitativen Bestimmung betrug die Konzentration der p-Hydroxyphenylessigsäure 1,92 mg% und der p-Hydroxyphenylmilchsäure 17,7 mg%. Da ein exaktes Sammeln des 24-Std. Urins nicht möglich war, konnte die Tagesausscheidung nicht berechnet werden.

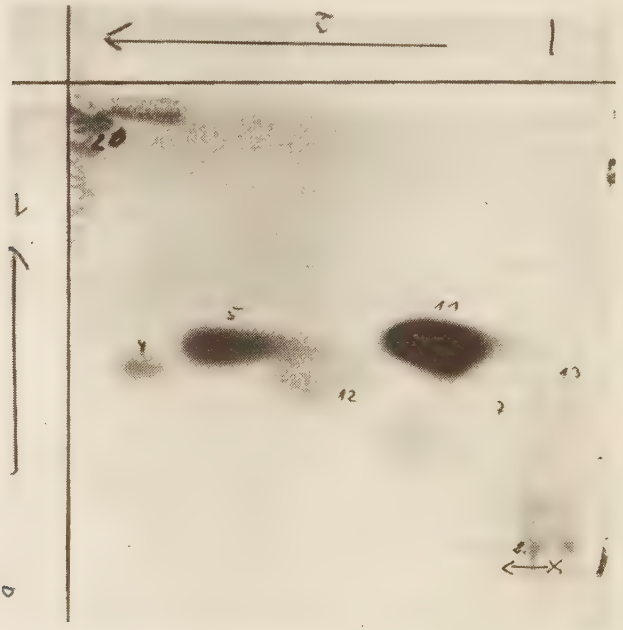


Abb. 14: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Exogenes Leberkoma, Stadium III. Anfärbung mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Es wurde der Ätherextrakt von 0,5 ml Urin chromatographiert.

Fall Nr. 6, M. Willi, geb. 17.2.02, Krbl. Nr. 389/66

Stationäre Behandlung: 17.3.66 - 27.4.66
18.5.66 - 6.6.66

Diagnose: Dekompensierte Alkoholcirrhose, Coma hepaticum.

Am 17.3.66 wurde der Patient zum erstenmal in der I. Medizinischen Klinik zur stationären Behandlung aufgenommen. Er leide seit ca. 5 Jahren unter Belastungsdyspnoe und seit 1 1/2 Jahren unter Ruhedyspnoe. Seit 1 1/2 Jahren bemerke er oft ein Druckgefühl unter dem rechten Rippenbogen, Blähungen und Völlegefühl, außerdem sei der Urin häufiger bierbraun gefärbt. Vom Hausarzt wurde ihm eine strenge Leberdiät mit Alkohol- und Nikotinverbot verordnet. Gegen das Alkoholverbot habe er jedoch häufig verstoßen. In letzter Zeit kam es zu einer erheblichen Verschlechterung des Allgemeinbefindens und es erfolgte die Einweisung zur stationären Behandlung. Es wurden die Diagnosen: Dekompensierte Lebercirrhose bei Fettleber (erheblicher Alkoholabusus) und Herzdekompensation (Arrhythmia absoluta) gestellt.
Am 27.4.66 verließ der Patient auf eigenen Wunsch die Klinik.

Am 18.5.66 mußte er erneut, diesmal praecomatös, aufgenommen werden.
Bei der klinischen Untersuchung fand sich der 64jährige Patient in einem schlechten Allgemeinzustand, Sensorium getrübt, zeitlich und örtlich desorientiert. Haut und sichtbare Schleimhäute waren deutlich ikterisch. Es bestand eine erhebliche Lippen- und Allgemeinzyanose, ein deutliches Caput medusae und eine Bauchglatze. Dupuytrensche Kontraktur im Bereich beider Hände und Palmarerytheme. Im Halsbereich ließen sich mehrere Spider naevi nachweisen. Die Zunge war rot, glatt atrophisch. Der rechte Leberlappen überragt den rechten Rippenbogen in der MCL um eine Handbreite, der Rand war scharf und mäßig druckempfindlich, die Oberfläche glatt. Die Milz war nicht vergrößert. Herz war nicht verbreitert, die Aktionen arrhythmisch, kein Pulsdefizit, Frequenz bei 90/Min.

Bei den Laboruntersuchungen konnte eine vermehrte Ausscheidung von Bilirubin und Urobilinogen nachgewiesen werden. Im Serum lag das Bilirubin bei 14,5 %, SGPT 9 mU, das Gesamteiweiß 7,5 g%, Albumine 29 % und Gammaglobuline 49,5 %.

Es wurde eine Therapie mit einer streng eiweißarmen Diät, täglichen Lävulose-Infusionen, Aspargin-Aspartat und Bykomycin sowie einer Herztherapie mit 2 x 1/4 mg Kombetin eingeleitet. Trotz dieser Therapie verschlechterte sich das Allgemeinbefinden des Patienten zusehends. Er fiel in eine tiefe Bewußtlosigkeit. Auf 400 mg Urbason/24 Std. besserte

sich der Zustand vorübergehend. Die Besserung hielt ca. vier Tage an. Am 28.5. kam es zu einer erneuten Verschlechterung. Der früher gut ansprechbare Patient fiel in einen tief comatösen Zustand. Praeterminal kam es zu extremen Verschiebungen des pH-Wertes zur alkalischen Seite.

Phenolsäuremuster:

Das Phenolsäuremuster wurde am Todestag untersucht. Es wurde eine Urinmenge von 1,5 ml Urin untersucht. Das Chromatogramm Abb. 15 zeigt die für das exogene Leberkoma Stadium III typischen Veränderungen: sehr hohe Konzentration der p-Hydroxyphenylmilchsäure und deutliche Konzentrationszunahme der p-Hydroxyphenylessigsäure. Allerdings läßt sich in diesem Fall die Substanz Nr. 6 nachweisen.

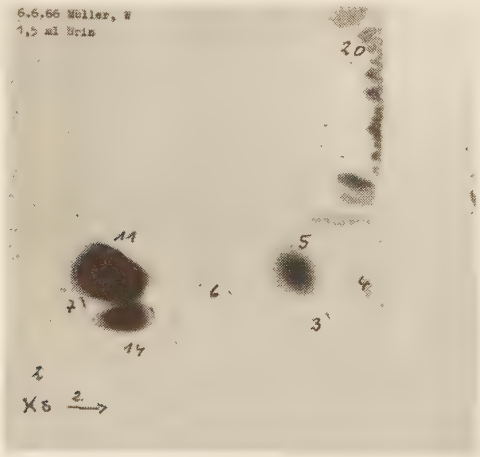


Abb. 15: Trennung von Phenolen auf der Cellulose-Dünnschicht. Exogenes Leberkoma Stadium III. Angefärbt mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht 1,5 ml Urin.
p-Hydroxybenzoesäure (3), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), 5-Hydroxyindolessigsäure (14).

Fall Nr. 7, Dr. Sch.

Diagnose: Exogenes Leberkoma Stadium III.

Der Urin wurde uns freundlicherweise aus einem auswärtigen Krankenhaus zugeschickt. Leider konnten wir über den Krankheitsverlauf keine näheren Angaben erhalten.

Phenolsäuremuster.

Das Phenolsäuremuster zeigt die schon bekannten für das exogene Leberkoma Stadium III charakteristischen Veränderungen. Die auf dem Chromatogramm gestrichelt umrandeten Bezirke sind keine Phenolderivate, sie stellen Substanzen dar, die unter der UV-Lampe entweder selbst fluoreszieren oder die Fluoreszenz löschen.

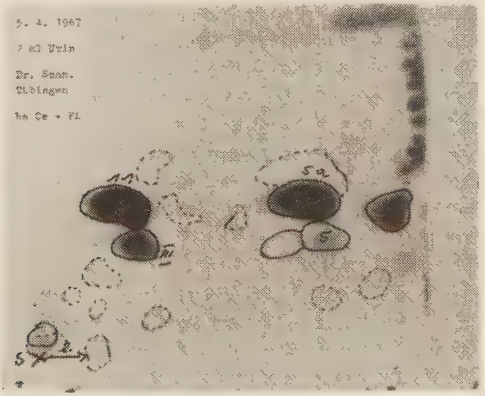


Abb. 16: Trennung von Phenolen auf der Cellulose-Dünnschicht. Exogenes Leberkoma Stadium III. Angefärbt mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht 2 ml Urin. p-Hydroxybenzoesäure (5), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5a), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), 5-Hydroxyindolessigsäure (II).

Gruppe II (endogenes Leberkoma).

Stadium I.

Fall Nr. 6, Z. Anna, geb. 3o.1o.87, Krbl.Nr. 15o8/66

Stationäre Behandlung: 7.11.66 - 18.11.66

Diagnose: Subakute Leberdystrophie nach schwerer Hepatitis.

Juli 1966 apoplektischer Insult mit linksseitiger Hemiparese. Anfang Oktober 1966 traten Schmerzen unterhalb des rechten Rippenbogens auf, die die Patientin als dumpfes, anhaltendes Druckgefühl beschrieb. Etwa drei Wochen vor der Klinikaufnahme erstmals Übelkeit, Brechreiz und mehrfach erbrochen. Am 1.11. waren die Skleren und später auch die Haut ikterisch.

Bei der Klinikaufnahme war die 79-jährige Patientin deutlich in ihrem geistigen Verhalten verlangsamt, sie war aber zeitlich und örtlich voll orientiert. Es bestand ein ausgeprägter Ikterus der Haut, der Skleren wie auch der Schleimhäute. Beide Halsvenen waren gestaut. Über den Untergeschoßen beider Lungen hörte man, vorwiegend dorsal, basal mittel- feinblasige Rasselgeräusche. Das Herz war deutlich nach links verbreitert, die Taille verstrichen. Die Aktionen und Töne boten keinen pathologischen Befund. Die Leber war etwa 4-5 cm unter dem rechten Rippenbogen zu tasten, sie war konsistenzvermehrt und grob höckrig. Das ganze Organ war druckschmerzhaft. Die Milz war nicht zu tasten. Beide Nierenlager waren klopf- und druckempfindlich. Es lag eine linksseitige Hemiparese vor. Geringe praetibiale Oedeme beiderseits.

Laborbefunde: Im Urin konnte sowohl Bilirubin als auch Urobilinogen vermehrt nachgewiesen werden. Das Serumbilirubin lag bei 3o mg%, die SGPT bei 45o mU, der Serumeisenspiegel bei 262 gamma% und die alkalische Phosphatase bei 18,5 KAE/ml. Der AST war mit 352o sehr hoch. Im Blutzuckertagesprofil lagen die Werte zwischen 2oo und 22o mg%. Das Gesamteiweiß betrug 7,o, Albumine 43 % und Gammaglobuline 41,2 %, der Quickwert war auf 21 % erniedrigt.

Es wurde sofort eine Infusionstherapie mit Lävulose und Tutofusin CH unter Zugabe von Lanicor und Vitamin K eingeleitet. Zusätzlich wurden 8o mg Urbason täglich verabreicht, die Dosis mußte aber wegen des sich langsam verschlechternden klinischen Bildes schließlich auf 2oo mg Urbason täglich erhöht werden. Am 14.11. war die Patientin im Coma hepaticum Stadium I-II. Ein Versuch, mit hohen Dosen von Arginin-Aspartat eine Wendung des Krankheitsbildes herbeizuführen, mißlang. Am 17.11. wurde die Patientin tief comatös. Am 18.11. verstarb die Patientin.

Leider wurde von den Angehörigen eine Obduktion verweigert. An dem post mortem entnommenen Leberpunktionszylinder wurde die Diagnose einer subakuten Leberdystrophie mit Cholestase und frischem Schub gestellt.

Phenolsäuremuster.

Der Urin wurde am 12.11.66 untersucht. Die Patientin befand sich im endogenen Leberkoma Stadium I.

Es zeigt im wesentlichen die gleichen Veränderungen wie das Leberkranker im exogenen Leberkoma Stadium I.

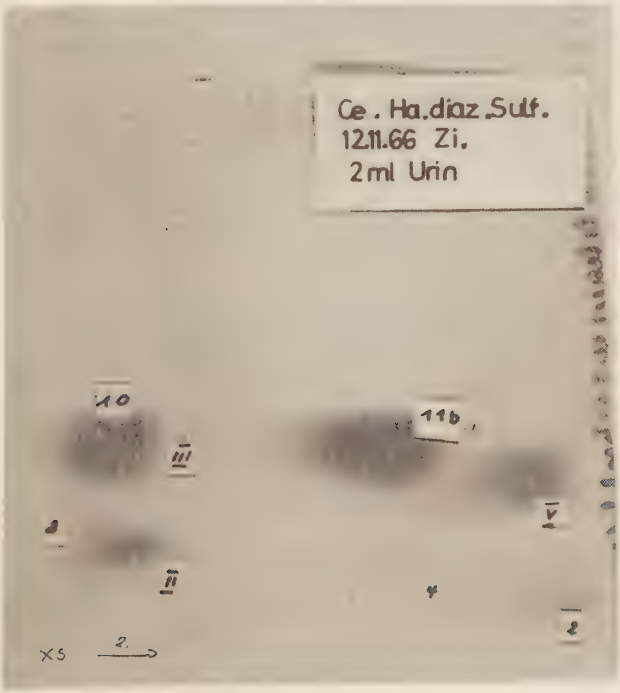


Abb. 17: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Endogenes Leberkoma Stadium I. Angefärbt mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht 2 ml Urin.
p-Hydroxybenzoesäure (4), Homovanillinsäure (V), p-Hydroxyphenylessigsäure (11b), p-Hydroxyphenylmilchsäure (1o), 5-Hydroxyindolessigsäure (II), Vanillinsäure (2).

Fall Nr. 4, G.Rudolf, geb. 6.8.o1, Krbl. Nr. 247/65

Stationäre Behandlung: 12.2.65 - 19.2.65

Diagnose: Akute gelbe Leberatrophie nach Virushepatitis, leichter Diabetes mellitus.

1963 wurde in der Chirurgischen Klinik Homburg das Lectum sigmoideum wegen eines Sigmakarzinoms reseziert und ein Anus praeter naturalis angelegt. 1964 konnte der Anus praeter naturalis wieder verschlossen werden.
Am 12.2.65 wurde der Patient in der I. Medizinischen Klinik aufgenommen. Es bestanden seit 14 Tagen Inappetenz, Frösteln, Ekel gegen Speisen, starke Abgeschlagenheit und Brechreiz. Vor 8 Tagen kam es zunehmend zur Gelbfärbung der Skleren und der Haut, der Urin war dunkelbraun und der Stuhl grau.

Bei der Aufnahme war der 64-jährige Patient leicht benommen, er war jedoch zeitlich und örtlich voll orientiert. Es bestand ein ausgeprägter Ikterus der Haut, der Skleren und der sichtbaren Schleimhäute, sekundäre Leberzeichen waren nicht nachweisbar.
Die Leber war um 2 1/2 Qf unter dem rechten Rippenbogen vergrößert tastbar. Die Milz war nicht zu tasten.
Laborbefunde: Bei der Aufnahme lag das Serumbilirubin bei 36 mg%, SGPT 774 mU, alk.Phosphatase 9,5 KAE/ml, Kalium 4,4 mÄqu. das Gesamteiweiß bei 7,3 g%, Albumine 53,3 %, Gammaglobuline 39,1 %. Das Serumeisen war auf 232 gamma% erhöht, das Prothrombin auf 21 % vermindert.

Die Behandlung erfolgte mit eiweißfreier Kost, Bykomycin per oral, Lävuloseinfusionen unter Zusatz von Vitamin B, C und K und Hostacortin 15o mg täglich. Unter dieser Therapie blieb das Krankheitsbild zunächst stationär. Am 15.2. trat ein deutlich wahrnehmbarer Foetor hepaticus auf, das Prothrombin sank auf 1o % und das Serumbilirubin stieg bis schließlich auf Werte von 59 mg%. Trotz Dosissteigerung von Hostacortin bis auf 3oo mg täglich verschlechterte sich das Zustandsbild zusehends. Am 18.2. fiel der Patient in das Coma hepaticum, Stadium III. Er verstarb am 19.2.65.

Bei der durchgeführten Sektion wurde die Diagnose einer subakuten Leberdystrophie mit sehr ausgedehnten frischen Nekrosen des Lebergewebes und beginnender Regeneration gestellt.

Phenolsäuremuster.

Das Phenolsäuremuster wurde am 12.2.65 (Abb. 18) und am 14.2.65 (Abb. 19) untersucht. An beiden Tagen befand sich der Patient im Coma hepaticum Stadium I.

Es lassen sich noch eine Vielzahl von Phenolderivaten nachweisen. Es fällt jedoch schon die hohe Konzentration der p-Hydroxyphenylmilchsäure und der p-Hydroxyphenylessigsäure sowie das Fehlen der Substanz Nr. 9 auf. Die Tagesausscheidung von p-Hydroxyphenylmilchsäure betrug 250 mg (Konzentration 25 mg%), von p-Hydroxyphenylessigsäure 42,8 mg (Konzentration 4,3 mg%).

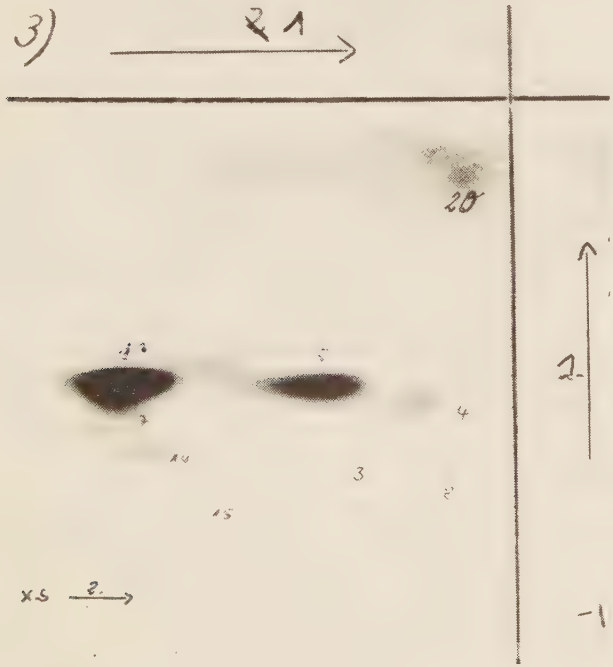


Abb. 18: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Endogenes Leberkoma Stadium I. Angefärbt mit dem diaz.Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht 0,5 ml Urin.
p-Hydroxybenzoesäure (3), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (8), Vanillinsäure (8), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), Hydroxyindolessigsäure (14).

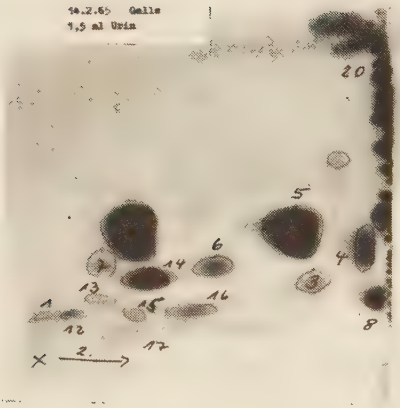


Abb. 19: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Endogenes Leberkoma Stadium I. Angefärbt mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht 1,5 ml Urin. p-Hydroxybenzoesäure (3), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), 5-Hydroxyindolessigsäure (14).

Stadium III:

Fall Nr. 2, Br. Hildegard, geb. 11.6.34, Krbl. Nr. 515/67

Stationäre Behandlung: 18.4.67 - 28.4.67
7.7.67 - 11.7.67

Klinische Diagnose: Perakute Leberdystrophie.

Wegen heftiger Durchfälle, Fieber und Erbrechen wurde die Patientin Anfang April 1967 in ein auswärtiges Krankenhaus eingewiesen. Es fiel eine Anurie mit zunehmender Rest-N-Steigerung auf. Es erfolgte die Überweisung in die 1. Med. Univ.Klinik zur Dialysebehandlung.

Unter der Dialysebehandlung kam es sehr schnell zur Besserung des Allgemeinbefindens. Bei den nun durchgeführten Untersuchungen wurde eine beiderseitige subpelvine Ureterenstenose diagnostiziert, die auf der rechten Seite durch einen Ureterenkatheter überwunden werden konnte.
Am 8.5.67 wurde in der Urologischen Klinik eine Nierenbeckenplastik und ein Nierenfistelkatheter links angelegt. Nach gutem Heilungsverlauf konnte der Katheter am 6.6.67 gezogen werden.
Am 4.7.67 traten ziehende Schmerzen in beiden Armen und im Bereich des Schultergürtels und des Rückens auf. Sie fühlte sich schlapp, bekam einen leichten Schüttelfrost. Die Temperatur betrug 39 - 4o Grad C. Am folgenden Tag bemerkte sie eine Gelbfärbung der Skleren und der Haut, sie erbrach wiederholt wässrigen Mageninhalt, wurde inappetent, außerdem bekam sie einen Juckreiz am ganzen Körper.
Am 6.7.67 wurde sie in die urologische Klinik eingewiesen. Von hier aus wurde sie wegen des Verdachts auf eine Hepatitis in die I. Medizinische Klinik überwiesen.
Bei der Aufnahme war die Patientin völlig bewußtseinsklar. Es bestand ein ausgeprägter Sklerenikterus und deutlicher Hautikterus. Sekundäre Leberzeichen ließen sich nicht nachweisen. Das Abdomen war weich, die Leber nicht vergrößert, die Milz nicht palpabel.
Laborbefunde bei der Aufnahme: Gesamtbilirubin im Serum 6,4 mg%, SGPT und SGOT über 1ooo mU, Kreatinin 5,4 mg%, Kalium 4,2 mÄqu./l, der Quickwert lag bei 12 %. Im Urin konnte vermehrt Bilirubin und Urobilinogen nachgewiesen werden.

Es wurde sofort eine Therapie mit Infusionen von Tutofusin CH und Lävulose unter Zusatz der Vitamine C und K und Arginin-Aspartat eingeleitet. Trotzdem kam es zu einer zunehmenden Verschlechterung des Krankheitsbildes. In den Morgenstunden des 9.7.67 bildete sich das Vollbild eines Coma hepaticum Stadium III aus. Die blutchemischen Untersuchungen zeigten gleichzeitig, daß sich eine sogenannte Lactatacidose ausgebildet hatte. Durch intensive Therapie mit Natriumbicarbonat konnte die Acidose zunächst gut beherrscht werden. In den Nachmittagsstunden kam es jedoch zu einem bedrohlichen Blutdruckabfall auf systolische Werte um 7o mm Hg und die Urinausscheidung versiegte praktisch völlig. Aus diesem Grunde wurde eine peritoneale Dialyse durchgeführt. Obwohl der pH-Wert wieder normalisiert, der Milchsäurespiegel erheblich gesenkt wurde, und die Urinausscheidung wieder in Gang kam, trat in der Bewußtseinslage der Patientin keine Änderung mehr ein. In den Mittagsstunden des 11.7.67 kam es erneut zu einem Abfall des pH und zu einer Zunahme der Milchsäure. Die Patientin verstarb unter den Zeichen des Kreislaufversagens am 11.7.67.
Bei der durchgeführten Obduktion konnte die Diagnose einer perakuten Leberdystrophie bestätigt werden.

Phenolsäuremuster.

Das Phenolsäuremuster vom 9.7.67 zeigt die Abb. 2o. Der Patient befand sich im Coma hepaticum Stadium III. Ähnlich den Phenolsäurechromatogrammen Leberkranker im exogenen Leberkoma Stadium III ist die Anzahl der Phenolderivate deutlich vermindert. Die p-Hydroxyphenylmilchsäure ist die Substanz mit der höchsten Konzentration, die übrigen dargestellten Phenolsäuren treten stark in den Hintergrund.

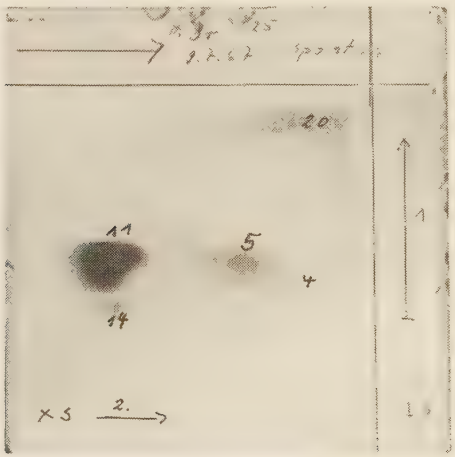


Abb. 2o: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Endogenes Leberkoma Stadium III. Angefärbt mit dem diaz.Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht o,5 ml Urin. Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), 5-Hydroxyindolessigsäure (14).

Fall Nr. 3. E. Lina, geb. am 11.7.85, Krbl. Nr. 84o/66.

Stationäre Behandlung: 26.1o.66 - 19.3.68

Klinische Diagnose: Großkavernöse Oberlappentuberkulose mit Streuherden in den rechten Unterlappen und in den linken Oberlappen mit Bakterien-nachweis. Diabetes mellitus. Chronischer Harnwegsinfekt. Leberzerfallskoma bei Hepatitis.

Seit 1959 Diabetes mellitus bekannt. In letzter Zeit Herzja-gen und Kurzatmigkeit, es erfolgte deshalb die stationäre Behandlung in einem auswärtigen Krankenhaus. Dort wurde die Tuberkulose festgestellt. Es erfolgte die Überweisung in die Robert-Koch-Abteilung der I. Medizinischen Univ.Klinik. Mit Tuberkulostatika konnte eine vollständige Rückbildung der Lungentuberkulose erzielt werden.
Am 14.3.68 kam es zu einem ständigen Erbrechen und zu einem ausgeprägten Ikterus der Skleren, der Haut und der Schleimhäute mit Serumbilirubinwerten über 12 mg%. Es kam zu einem Anstieg der Transaminasen von SGPT 9oo und SGOT 785 mU. Die Patientin wurde wegen des Verdachts auf eine Hepatitis in die Infektionsabteilung verlegt. Dort ver-schlechterte sich der Zustand der Patientin zusehends. Am 15.3.68 lag der Prothrombinwert bei 15 %. Die Patientin verstarb am 19.3.68 im endogenen Leberkoma Stadium III. Die Sektion wurde leider abgelehnt.

Phenolsäuremuster.

Das Phenolsäuremuster wurde am Todestag untersucht. Es ist dem eines Leberkranken im Coma Stadium I - II ähnlich. Die Anzahl der Phenolderivate ist relativ hoch, die Konzentra-tionszunahme der p-Hydroxyphenylessigsäure und der p-Hydroxy-phenylmilchsäure ist derart stark, wie bei den übrigen Fällen im Coma Stadium III.

Die Diagnose Coma hepaticum Stadium III wurde nach dem klinischen Bild gestellt. Auf Grund der Vorerkrankungen, Diabetes mellitus, großkavernöse Lungentuberkulose und bei dem hohen Alter der Patientin (83 Jahre) und dem langen

Krankenlager (1 1/2 Jahre) ist es möglich, daß die praefinal aufgetretene Bewußtlosigkeit nicht ausschließlich auf den schweren Leberschaden im Sinne eines Leberzerfallskomas bei Serumhepatitis zurückgeführt werden kann.

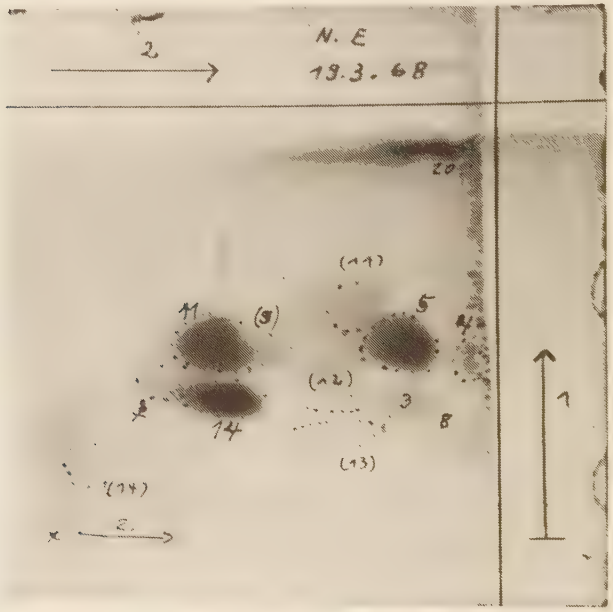


Abb. 21: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Endogenes Leberkoma Stadium III. Angefärbt mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Der Phenolgehalt entspricht o,75 ml Urin. p-Hydroxybenzoesäure (3), Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), Vanillinsäure (8)?, p-Hydroxyphenylmilchsäure (11).

Fall Nr. 1, B. Alma.

Stationäre Behandlung:

Diagnose: Perakute Leberdystrophie, Coma hepaticum Stadium III.

Von dieser Patientin wurde uns freundlicherweise aus einem auswärtigen Krankenhaus der Urin, mit den klinischen Angaben: Perakute Leberdystrophie mit Ausbildung eines Coma hepaticum Stadium III, übersandt. Die Urinmenge betrug 1100 ml/Tag. Leider waren zum Krankheitsverlauf keine weiteren Angaben aus der Klinik zu erhalten.

Phenolsäuremuster.

Das Phenolsäuremuster wurde am 5.7.67 untersucht. Das Chromatogramm zeigt das typisch eintönige Phenolsäurespektrum, die deutliche Vermehrung der p-Hydroxyphenylessigsäure und der p-Hydroxyphenylmilchsäure. Die übrigen Phenolsäuren treten vollständig in den Hintergrund.

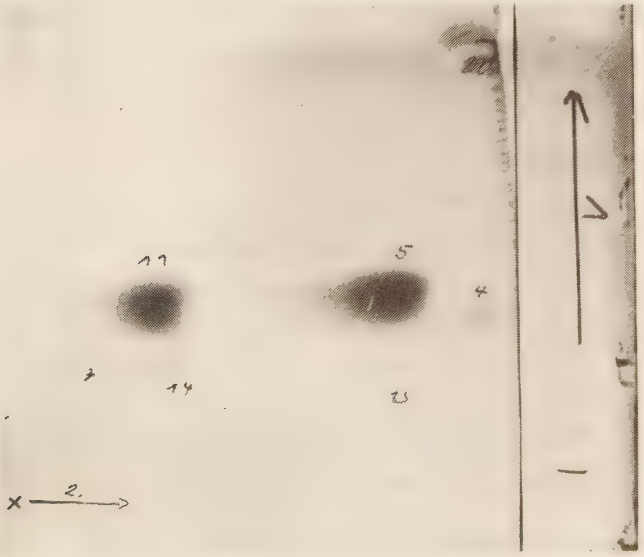


Abb. 22: Trennung von Phenolsäuren auf der Cellulose-Dünnschicht. Endogenes Leberkoma Stadium III. Angefärbt mit dem diaz. Sulfanilsäure-Reagens. Phenolgehalt entspricht 0,5 ml Urin. Homovanillinsäure (4), p-Hydroxyphenylessigsäure (5), p-Hydroxyphenylmilchsäure (11), 5-Hydroxyindolessigsäure (14).

2. Einfache Phenole.

Auf den vorhergehenden Chromatogrammen der Phenolsäuren fiel die Substanzgruppe Nr. 2o auf, die sowohl im basischen wie auch im sauren Fließmittel an der Front wandert. Von unseren Testsubstanzen liegen das 1-Naphthol, das Phenol und die Isomeren des Kresol hier. In diesem Kapitel soll der Gehalt des Urins Gesunder und Leberkranker an einfachen Phenolen untersucht werden.

A. Gesunde:

Es wurden die Urine von 1o lebergesunden Studenten im Alter von 25 - 3o Jahren untersucht.

B. Leberkranke:

Wir untersuchten den Urin eines Patienten mit einer Cirrhose cardiaque, einer Patientin im exogenen Leberkoma Stadium I und einer Patientin im endogenen Leberkoma Stadium III.

Die Tabelle 6 enthält die genauen Angaben der klinischen und pathologisch - anatomischen Diagnosen.

Tabelle 6: Klinische und pathologisch-anatomische Diagnosen.

Lfd. Nr.	Name	Krbl.Nr.	Alter	klinische Diagnose	path.-anatom. Diagnose
1	F.Gertrud	1363/67	7o	Coma hep. Stadium I, Lebercirrh. n.rezidiv. Cholangi-itiden	ausgebildete, noch fortschre tende Leber- cirrhose mit kräftiger Chol estase, Zell- nekrosen nicht selten.
2	E. Lina	388/68	83	großkav.Ober- lappen-Tbc., Diab.mel., Leberschaden, Serumhepatitis, Coma hepaticum Stadium III, chron.Harnwegs- infekt.	
3	H. Karl	827/66	6o	Cor pulmon. bei chron.Em- physembronchi- tis, Cirrhose cardiaque.	

Ergebnisse:

Gesunde:

Im Urin von 1o gesunden Vergleichspersonen konnten keine einfachen Phenole, wie Phenol und p-Kresol nachgewiesen werden. (Abb. 23, B_1 u. B_2). Man erkennt am Auftragungsort einen großen Substanzfleck, der ausschließlich von Phenolsäuren gebildet wird.

Leberkranke:

Auf allen Chromatogrammen C_1 (F.Gertrud), C_2 (E. Lina) und C_3 (H.Karl) (Abb. 24,25) kann man Phenol in hoher Konzentration nachweisen, auf dem Chromatogramm C_1 (F.Gertrud) stellen sich zusätzlich noch p-Kresol dar und eine weitere nicht identifizierbare Substanz zwischen Phenol und p-Kresol.

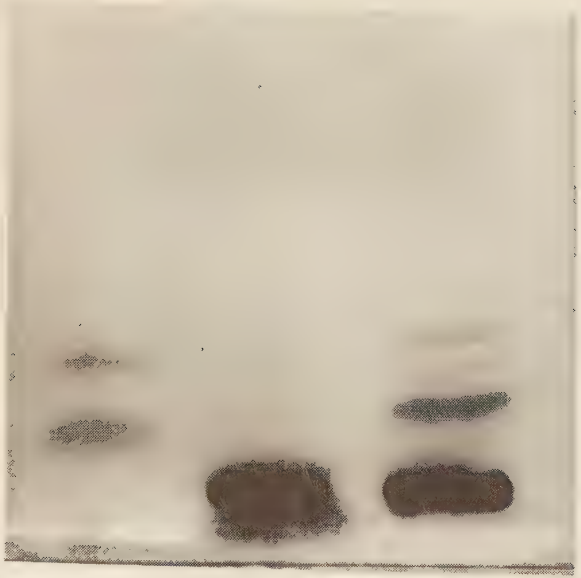


Abb. 23:

Abb. 24:

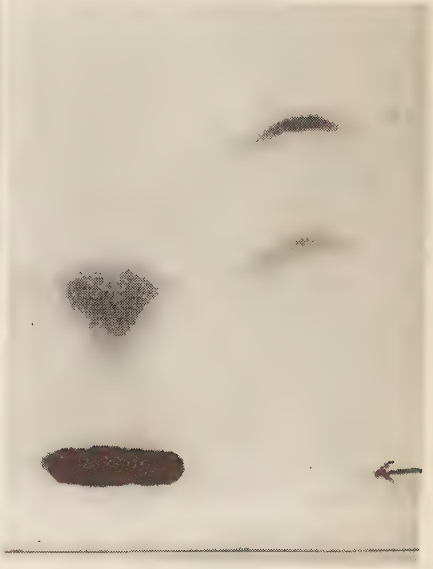


Abb. 25:

Trennung von Phenol und p-Kresol auf der Cellulose-Dünnschicht. - A_1, A_3: Substanzgemisch, B_1, B_2: gesunde Erwachsene (Ätherextrakt von 1o ml Urin), C_1 : Exogenes Leberkoma Stadium I, C_2 : endogenes Leberkoma Stadium III, C_3 : Cirrhose cardiaque.

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Phenolsäuren im Urin Gesunder und Leberkomakranker.

Es wurden zur qualitativen Untersuchung der Phenolsäuren im Urin Ätherextrakte chromatographiert, die einer Urinmenge von o,5 ml bis zu 2 ml entsprachen. Die Chromatogramme können deshalb nur über die Konzentration der einzelnen Substanz aussagen, nicht aber über die gesamte Tagesausscheidung.

Wir haben bewußt auf eine Beziehung zum Urin - Kreatinin als Parameter der Gesamturinmenge verzichtet, wie es von ARMSTRONG und Mitarbeitern, HARTMANN, HARTMANN und RUGE empfohlen wird, da gerade in neueren Arbeiten darauf hingewiesen wird, daß dieser Parameter selbst bei ein und demselben Individuum sehr unsicher ist. (CRAMER und Mitarbeiter, PATERSON).

Auf eine Extraktion des Ätherextraktes mit Natriumbikarbonat zur Trennung der einfachen Phenole von den Phenolsäuren wurde verzichtet, um die Ergebnisse der Chromatographie mit denen der Summationsbestimmung in einer weiteren Arbeit vergleichen zu können.

Bei der Durchmusterung der Phenolsäure - Chromatogramme Gesunder lassen sich insgesamt 28 deutlich voneinander abgrenzbare diazopositive Substanzflecke nachweisen (Tabelle 5).

Von diesen waren die Homovanillinsäure (4), die p-Hydroxyphenylessigsäure (5), der Fleck Nr. 6, der Fleck Nr. 7, der Fleck Nr. 9, die 5-Hydroxyindolessigsäure sowie der Fleck Nr. 2o regelmäßig vorhanden. Der Fleck Nr. 6 wird wahrscheinlich von der 3-Methoxy-, 4-Hydroxyphenyl, ß-Hydroxypropionsäure, der Fleck Nr. 9 von der m-Hydroxyphenyl, ß-Hydroxypropionsäure gebildet (Vergleich mit den Chromatogrammen von HARTMANN und RUGE). Fleck Nr. 7 beinhaltet ein Substanzgemisch - bestehend aus m- und p-Hydroxymandelsäure und Vanillinmandelsäure. Der Fleck Nr. 2o besteht aus einer Substanzgruppe, die in beiden Fließmitteln an der Front wandert. Von unseren Testsubstanzen wandern die Isomeren des Kresol, das Phenol und das 1-Naphthol in beiden Fließmitteln an der Front.

Bei vier Lebergesunden wurde die p-Hydroxyphenylessigsäure quantitativ bestimmt. Sie betrug im Mittel 16,5 mg/die (14,3 - 19,2 mg/die). Unser Mittelwert läßt sich gut mit dem von RUGE mittels der Gaschromatographie gewonnenen Mittelwert für die Ausscheidung von p-Hydroxyphenylessigsäure von 15 mg/die vergleichen.

Bei einem Vergleich der Phenolsäureausscheidung Lebergesunder und Leberkranker fielen HARTMANN und HARTMANN und RUGE typische Veränderungen auf. Sie fanden bei Leberkranken folgende Phenolsäuren vermehrt:

Die p-Hydroxyphenylessigsäure, o-Hydroxyphenylbrenztraubensäure, Vanillinsäure, m-Cumarsäure, p-Cumarsäure, m-Hydroxybrenzoesäure, p-Hydroxybenzoesäure, p-Hydroxyphenylmilchsäure, m-Hydroxyphenyl, ß-Hydroxypropionsäure, Xanthurensäure und der Isoferulasäure. Vermindert war die Ausscheidung der m-Hydroxyphenylessigsäure, der α-Resorcylsäure und der Ferulasäure. Bei der Untersuchung Praekomatöser, die im wesentlichen die gleichen Veränderungen zeigten, hoben sie besonders die starke Konzentrationszunahme der p-Hydroxyphenylmilchsäure und die verminderte Ausscheidung der m-Hydroxyphenylessigsäure hervor.

Unsere dünnschichtchromatographischen Untersuchungen zeigen entsprechend den Ergebnissen von HARTMANN und RUGE eine deutliche Konzentrationszunahme der p-Hydroxyphenylessigsäure und der p-Hydroxyphenylmilchsäure. Bei der quantitativen Bestimmung der p-Hydroxyphenylessigsäure im 24 Stunden-Urin betrug sie bei 2 Patienten im exogenen Leberkoma Stadium I-II und III 64,9 bzw. 19,2 mg/die. Bei einem Fall eines endogenen Leberkomas im Stadium I wurde eine Tagesausscheidung von 42,8 mg gemessen. Die Ausscheidung der p-Hydroxyphenylmilchsäure lag bei denselben Patienten im exogenen Leberkoma Stadium I-II und III bei 288 mg/die (15,15 mg%) und 177 mg/die (17,7 mg%). Im endogenen Leberkoma lag sie im Stadium I bei 25o mg/die. Es scheint so, da die Konzentration dieser Substanzen nahezu parallel dem

Schweregrad der Erkrankung zunehmen. Im Leberkoma Stadium III entspricht fast die gesamte Phenolsäureausscheidung der Ausscheidung der p-Hydroxyphenylessigsäure und vor allem der p-Hydroxyphenylmilchsäure. (Exogenes Leberkoma Stadium III: Fall Nr. 2 und Nr. 4, endogenes Leberkoma Fall 2 und 1.). Eine Konzentrationszunahme der übrigen Substanzen, wie sie von HARTMANN und RUGE angegeben wird, konnten wir nicht feststellen. Unsere Chromatogramme zeigen im Gegensatz dazu starke Konzentrationsabnahme jener Phenolsäuren. Selbst die Substanzen Nr. 9, m-Hydroxyphenyl, ß-Hydroxypropionsäure, sowie die Substanz Nr. 6, 3-Methoxy-4-Hydroxyphenyl, ß-Hydroxypropionsäure, die im Normalurin immer in sehr hoher Konzentration nachweisbar waren, ließen sich im Coma Stadium II und III nicht mehr nachweisen.

Von mehreren Autoren wird darauf hingewiesen, daß die p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure bei Lebererkrankungen vermehrt ausgeschieden wird (FELIX und Mitarbeiter, LEONHARDI und Mitarbeiter, GROS und KIRNBERGER). Bei der zweidimensionalen Chromatographie ist diese Säure sehr unbeständig, unter der Chromatographie wird sie in 16 verschiedene diazopositive Substanzen umgewandelt, von denen die p-Hydroxyphenylessigsäure und die p-Hydroxyphenylmilchsäure die größten Konzentrationen haben (GJESSING und Mitarbeiter). Im sauren

Fließmittel Benzol/Methanol/Eisessig tritt als Zersetzungsprodukt auf Kieselgel-Schichten die p-Hydroxyphenylessigsäure auf, außerdem zeigt die p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure eine ausgeprägte Schweifbildung, so daß eine exakte Abgrenzung zur p-Hydroxyphenylmilchsäure dadurch erschwert ist.

Eine Deutung dieser für das Leberkoma typischen Veränderung im Phenolsäuremuster ist sehr schwer. Die Abnahme der Anzahl der dargestellten Phenolsäuren ist wahrscheinlich auf den Fortfall von aromatischen Verbindungen mit der Nahrung sowie auf die medikamentöse Unterdrückung der Darmflora zurückzuführen (RUGE, ROGERS).

Die starke Konzentrationszunahme der p-Hydroxyphenylmilchsäure und der p-Hydroxyphenylessigsäure lassen sich am ehesten mit einer partialen Insuffizienz der Leber, einer sekundären, exogenen Enzymopathie nach AAMON, erklären. Der Hauptabbauweg der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin scheint auf der Stufe der Umwandlung der p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure zu Homogentisinsäure blockiert zu sein. Die Ursache dieser Blockierung sieht GROS und KIRNBERGER in einem Sauerstoffmangel. Dieser Sauerstoffmangel kann bei den Lebererkrankungen in der Ausbildung von

Kollateralen zur Umgehung des portalen Systems begründet liegen, (Leberausfallskoma) oder in einer mangelhaften Utilisation des Sauerstoffs durch die erkrankte Leberzelle (endogenes Leberkoma).

Eine zweite Störung könnte bei der Rückbildung von p-Hydroxyphenylmilchsäure über die p-Hydroxybrenztraubensäure zu Tyrosin bestehen. Dieser Aufbau zu Tyrosin findet in der gesunden Leber neben dem Abbau des Tyrosins statt (WEST und TODD).
Beide enzymatischen Störungen für sich, wie auch die Kombination beider Störungen, würden zu einem Konzentrationsanstieg der p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure, der p-Hydroxyphenylmilchsäure und der p-Hydroxyphenylessigsäure führen.

Phenol und p-Kresol.

Im Urin von 1o Gesunden konnten wir kein freies Phenol nachweisen. Das entspricht den Ergebnissen aus der Literatur (FELIX und Mitarbeiter, PORTEOUS und WILLIAMS). Bei zwei Patienten im Leberkoma (exogenes Leberkoma Stadium I-II und endogenes Leberkoma Stadium III) und einem Patienten mit einer Cirrhose cadiaque konnte Phenol in einer hohen Konzentration nachgewiesen werden.

Im Fall des exogenen Leberkoma Stadium I-II ließ sich außerdem p-Kresol nachweisen. FELIX und Mitarbeiter fanden bei ihren Untersuchungen Leberkranker ebenfalls freies Phenol im Urin ihrer Patienten. Sie glauben, daß Phenol in der Leber aus p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure entsteht, und die geschädigte Leber nicht mehr im Stande ist, es vollständig zu verestern. Diese Befunde können andererseits für eine gestörte Entgiftungsfunktion der Leber sprechen, wobei die Leber nicht mehr in der Lage ist, das aus dem Darm anfallende Phenol und Kresol zu entgiften.

In unseren drei Fällen lag aus pflegerischen Gründen ein Dauerkatheter, im Urin fanden sich Leukozyten und vereinzelt Erythrozyten, allerdings keine Bakterien. Es ist in diesen Fällen möglich, daß eine Infektion der Harnabflußwege bestand. Bakterien sind sowohl in der Lage aus Tyrosin direkt Phenol und p-Kresol zu bilden als auch gebundenes Phenol und p-Kresol aus seinen Verbindungen mit Glukuronsäure und Schwefelsäure zu lösen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Verhalten freier Phenolkörper im Urin Leberkomakranker.
Nach einer kurzen Einleitung wird ein Überblick über die Biochemie der Phenole gegeben.
Im Anschluß daran werden Methoden zur Extraktion und Anreicherung dieser Phenolkörper aus dem Urin, ihre Trennung mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie und Möglichkeiten der Identifizierung besprochen.
Aufbauend auf die Arbeiten von ARMSTRONG und HARTMANN und RUGE werden die Phenolsäuren im Urin bei vier Gesunden und elf Leberkomakranken mit teilweise längeren Verlaufsbeobachtungen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie auf Celluloseschichten untersucht. Es wird ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der p-Hydroxyphenylessigsäure und der p-Hydroxyphenylmilchsäure im Urin angegeben.
Außerdem wird mit einer eigenen Modifikation eines papierchromatographischen Verfahrens die Ausscheidung an freiem Phenol und p-Kresol bei 10 Gesunden und drei Leberkranken untersucht.
Wir kamen zu folgenden Ergebnissen:

1. Im Urin Gesunder konnten wir 28 Phenolderivate in einer Urinmenge von o,5 ml nachweisen, von denen 14 anhand unserer Testsubstanzen identifiziert wurden.

2. Mit zunehmender Tiefe des Leberkomas nahm die Anzahl der dargestellten Phenolkörper ab, dagegen nahm der Anteil der p-Hydroxyphenylessigsäure und p-Hydroxyphenylmilchsäure zu.

3. Bei der quantitativen Bestimmung der p-Hydroxyphenylmilchsäure wurden im Leberkoma Werte um 250 mg/die gemessen, physiologischerweise wird diese Säure nur in Spuren ausgeschieden.

4. Nicht so stark war die Zunahme der p-Hydroxyphenylessigsäure. Im Leberkoma fanden sich Werte zwischen 19,2 mg/die und 64,9 mg/die, von Gesunden werden im Mittel 16,5 mg/die ausgeschieden.

5. Bei Lebergesunden ließ sich nie freies Phenol und p-Kresol nachweisen. Bei Leberkranken fand sich das Phenol immer in einer sehr hohen Konzentration, in einem Fall konnte freies p-Kresol nachgewiesen werden. Bei den untersuchten Patienten ließ sich jedoch nicht eindeutig eine Cystitis ausschließen.

Die Abnahme der Anzahl an Phenolsäuren im Leberkoma wird durch die medikamentöse Unterdrückung der Darmflora sowie einer eingeschränkten oder fehlenden Zufuhr aromatischer Substanzen mit der Nahrung. Die Konzentrationszunahme der p-Hydroxyphenylessigsäure und der p-Hydroxyphenylmilchsäure wird auf eine Störung beim oxydativen Abbau der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin zurückgeführt.

Literaturverzeichnis

1. AMMON, R. und HENNING, U.: Über das Auftreten von p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure und anderen -Ketosäuren im Harn von gesunden und leberkranken Kaninchen. Hoppe-Seyl.Z.physiol.Chem. 306, (1957): 214

2. ARMSTRONG, M.D., SHAW, K.N.F. and WALL, P.E.: The phenolic acids of human urine. Paper-Chromatography of phenolic acids. J.biol.Chem. 218, (1956): 293

3. BECKER, E., DOENECKE, F. und S. LITZNER: Quantitative Studien über die Fraktion der aromatischen Oxysäuren im Blut bei Krankheiten. Z.klin.Med. 104, (1926): 29

4. BECHER, E., LITZNER, St. und TÄGLICH, W.: Der Phenolgehalt des Blutes unter normalen und pathologischen Bedingungen. Z. klin. Med. 104, (1926): 182

5. HAZEL, R. BLOXAM, DAY, M.G., GIBBS, N.K. and WOOLF, L.I.: An inborn defect in the metabolism of tyrosine in infants on a normal diet. Biochem. J. 77, (1960); 320

6. BOOTH, A.N., EMERSON, O.H., JONES, F.T. and DE EDS F.: The metabolic fate of rutin and quercetin in the animal body. J.of Biol. Chem. 223, (1956): 251

7. BOOTH, A.N., EMERSON, O.H., JONES, F.T. and DE EDS F.: Urinary metabolites of caffeic and clorogenic acids. J. of Biol. Chem. 229, (1957): 51

8. BOOTH, A.N., MASRI, M.S., ROBBINS, D.J., EMERSON, O.H., JONES, F.T. and DE EDS F.:
Urinary phenolic acid metabolites of tyrosine.
J. Biol. Chem. 235, (1960): 2649

9. BOSCOTT, R.J. and BICKEL, H.:
Detection of some new abnormal metabolites in urine of phenylketonuria.
J. Clin. & Lab. Invest. 5, (1953):38

10. DALGLIESH, C.E.:
Metabolism of the aromatic amino acids.
Advanc. Protein Chem. 10, (1955)

11. DEICHMANN, W. und SCHAFER, L.J.:
Phenol studies.
Am. J. Clin. Path. 12, (1942): 129

12. FELIX, K., LEONHARDI, G. und VON GLASENAPP, I.:
Über Tyrosinosis.
Z. physiol. Chem. 287, (1951): 141

13. FELIX, K., LEONHARDI, G. und VON GLASENAPP, I.:
Über die Ausscheidung von p-Oxyphenylbrenztraubensäure, Phenol und Acetessigsäure im Harn nach Verabreichung von p-Oxyphenylbrenztraubensäure an Gesunde und Leberkranke.
Z. physiol. Chem. 287, (1951): 133

14. GROS, H. und KIRNBERGER, E.J.:
Spontanausscheidung von p-Oxyphenylbrenztraubensäure im Harn.
Klin. Wochenschr. 32, (1954): 115

15. GEROK, W.:
Aminosäurestoffwechsel bei Leberinsuffizienz.
Vortrag, gehalten auf der 75. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, Wiesbaden (1969)

16. GOMORI, G.: Determination of phenol in biological material. J. Lab. Clin. Med. 34, (1949): 275

17. GROS, H. und KIRNBERGER, E.J.: Störungen der fermentativen Oxydation bei Muskelerkrankungen. Klin. Wochschr. 32, (1954): 645

18. GJESSING, L.R., NISHIMURA, T. and BORUD, O.: Studies on urinary phenolic compounds in man. I. Excretion of p-hydroxymandelic acid by man. Investigations 17, (1965): 401

19. HARTMANN, F. und LENZ, H.: Das Phenol- und Indolmuster des Rattenurins nach Verfütterung von Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin und nach Hemmung der Darmflora durch Neomycin. Dtsch. Arch. klin. Med. 208, (1962): 29

20. HARTMANN, F. und RUGE, W.: Untersuchungen über das Phenolsäuremuster bei Leberkranken. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 208, (1962): 298

21. HARTMANN, F.: Das Phenolsäuremuster im Urin Leberkranker. Klin. Wschr. 6, (1962): 273

22. HUMBEL, P.R.: Dosage de l'acide ortho-hydroxyphènylacétique dans l'urine. Das Medizinische Laboratorium 11, (1965): 241

23. KATSCH, G. und CRAWACK, G.: Phenolcarbonsäuren in menschlichen Nahrungsprodukten. Zum Vorkommen von Phenolcarbonsäuren in menschlichen Nahrungsprodukten und ihr Einfluß auf den intermediären Stoffwechsel. Medizin und Ernährung 4, (1963): 1

24. LEONHARDI, G., VON GLASENAPP, I. und FELIX, K.:
Nachweis und Bestimmung der Oxypheny brenztraubensäure und des freien Phenols im Harn.
Z. physiol. Chem. 286, (1950), 19

25. LEVINE, S.Z., MARPLES, E. and GORDON, H.H.:
Defect in metabolism of tyrosine and phenylalanine in premature infants; identification and assay of intermediary products.
J. clin. Invest. 20, (1941); 199

26. MARTINI, G.A.:
Klinik und Therapie der chronischen Leberinsuffizienz.
Gastroenterologia (Basel), 90, (1958 240

27. MARTINI, G.A.:
Behandlung des Leberkomas.
Dtsch. Med. Wschr. 5, (1966): 221

28. MEDES, G.:
New error of tyrosine metabolism: tyrosinosis. Intermediary metabolism of tyrosine and phenylalanine.
Biochem. J. 26, (1932): 917

29. MÜTING, D., REIKOWSKI, H., ESCHERICH, W., BUHL, H. und JUTZLER, G.A.:
Zur Pathogenese und Klinik des Comahepaticum.
Dtsch. Med. Wschr. 33, (1966): 1449

30. OTTAWAY, J.H.
Eine Mikrobestimmung von Tyrosin und ihre Anwendung bei der Bestimmung de Tyrosinausscheidung von Phenyl-ketonuriker.
Biochem. J. 66, (1957): 8 P

31. PAPERSON, N.:
Relative constancy of 24-hour urine volume and 24-hour creatinine output
Clin. Chim. Acta 18, (1967): 57

32. PORTEOUS, J.W. und WILLIAMS, R.T.: Studies in detoxication. Biochem. J. 44, (1949), 46

33. RANDERATH, K.: Dünnschicht-Chromatographie. Verlag Chemie (1962)

34. ROBBINSON, R. und SMITH, P.: Urinary phenols in stress. Nature 186, (1960): 240

35. ROGERS, W.F. Jr., BURDICK, M.P. and BURNETT, G.R.: The effect of antibiotics on the excretion of phenolic compounds. J. Lab. Clin. Med. 45, (1955): 87

36. RUGE, W. und OTTO, P.: Der Stoffwechsel phenolischer Verbindungen bei Lebererkrankungen mit encephalopathischen Erscheinungen. Vortrag, gehalten auf der 75. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, Wiesbaden (1969)

37. SCHMID, E. und HENNING, N.: Über den Nachweis der 3-Methoxy-4-Hydroxy-Mandelsäure im Harn. Klin. Wschr. 11, (1963): 566

38. SCHMID, E., LAUDI, B., KRAUTHEIM, J. und TAUTZ, N.A.: Dünnschichtchromatographische Untersuchungen über die Ausscheidung einiger Phenol- und Indolsäuren im Harn. Z. klin. Chemie 4, (1966): 250

39. SEALOCK and SILBERSTEIN: Excretion of homogentisic acid and other tyrosine metabolites by vitamin-C-deficient guinea pig. J. Biol. Chem. 135, (1940): 251

40. SHAW, K.N.F. and TREVARTHEN, J.: Exogenous sources of urinary phenol and indole acids. Nature 182 II, (1958): 797

41. SHERLOCK, S.: Diseases of the liver and biliary system. Oxford (1963): 3. Ed.

42. STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie. Berlin, Heidelberg, New York, Springerverlag (1967): 2. Auflage

43. TAUTZ, N.A., VOLTMER, G. und SCHMID, E. Methode zur quantitativen Bestimmung von Homovanillinsäure und Vanillinmandelsäure im Urin mit dünnschichtchromatographischer Trennung. Klin. Wschr. 4, (1965): 233

44. TOMPSETT, S.L.: A study of the identification and determination of phenols and phenoli acids in urine. Clin. Chim. Acta 3, (1958): 149

45. WEST, E.St., TODD, W.R., MASON, H.S. und VAN BRUGGEN, J.T.: Textbook of Biochemistry. New York, London (1966): 4. Ed.

46. WILLIAMS, R.T.: Biochemistry of phenolic compounds (HARBORNE, J.B.). Academic Press, London and New York (1964)

47. ZANNONI, V.G. and LA DU, B.: Trasyluria resulting from inhibition of p-hydroxyphenylpyruvic acid oxydase in vitamin-C-deficient guine pigs. J. Biol. Chem. 235, (1960): 2667

Herrn Professor Dr.med. D. MÜTING
danke ich aufrichtig für die freundliche Überlassung des Themas und die wertvolle Hilfe bei der Ausarbeitung und Gestaltung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr. KELLER möchte ich danken für die Anregungen beim experimentellen Teil der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 7.4.1940 wurde ich als Sohn des Maschinenschlossers, Gottlieb Stumpf und dessen Ehefrau Gertrud Stumpf, ge - borene Koschorke, in Dortmund geboren.

1947 wurde ich in die evangelische Volksschule in Dort- mund - Dorstfeld eingeschult.

Von 1952 bis 1962 besuchte ich das Leibniz - Gymnasium in Dortmund, an dem ich 1962 die Reifeprüfung ablegte.

Von 1962 bis 1968 studierte ich an der Universität des Saarlandes Medizin. Im Januar 1968 bestand ich das Me - dizinische Staatsexamen. Seitdem arbeite ich im Landes- krankenhaus Homburg als Medizinalassistent. Zur Zeit bin ich in der Universitäts-Frauenklinik tätig.

ROTAPRINT-
OFFSET-
DRUCKEREI
Klein
6602 DUDWEILER Scheidter Straße 26
Tel. Sulzbach 7 32 84
IHR LIEFERANT FÜR DRUCKSACHEN ALLER ART